

Koroner Bypass Cerrahisinde Greft Olarak Kullanılan Safen Veninin Hazırlanmasında Endotel Hasarı: Işık ve Elektron Mikroskopik İnceleme

Op. Dr. Hasan KARABULUT, Oya KARABULUT*, S. ARBAK*, T. ŞAN*, Dr. Onur SOKULLU, Op. Dr. Ahmet KORUKÇU, Op. Dr. Hüseyin GERÇEKOĞLU, Op. Dr. Murat DEMİRTAŞ, Op. Dr. Hakan TOKLU

Prof. Dr. Siyami Ersek Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Merkezi, İstanbul

*Marmara Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

İnsan safen venini greft olarak kullanmada en iyi hazırlama tekniğini tayin etmek ve tartışmak amacıyla solüsyon ve basınç değişkenlerinin ven morfolojisine olan etkisi tarımalı elektron mikroskopisi ve ışık mikroskopisi ile karşılaştırıldı.

Aortokoroner bypass operasyonu yapılacak olan 10 hastadan alınan safen ven örnekleri her bir parça 3-4 cm. uzunlukta olmak üzere 7 segmente bölündü ve 7 grup oluşturuldu. Grup 1 kontrol olarak alındı. Grup 2 ve 3'te salin ve heparin solüsyonu 28°C'de 100 mmHg ve 300 mmHg basınçla, Grup 4 ve 5'de kan-heparin solüsyonu 28°C ve 100 mmHg ve 300 mmHg basınçla, Grup 6 ve 7'de kan-salin-heparin solüsyonu 28°C'de 100 mmHg ve 300 mmHg basınçla venlerde gerginlik oluşturacak şekilde uygulanıp parçalar ilgili solüsyonlarda 1 saat bekletildi. Daha sonra her bir parça ikiye bölünerek birinci parçalar % 10'luk tamponlanmış formalin solüsyonuna alınıp rutin ışık mikroskopisi takibinden sonra Hematoxylin-Eosin ve Elastik Van Gieson (Verhoeff) ile boyanıp incelendi. İkinci parçalar soğuk tamponlanmış (pH 7,2) % 3'lük glutaraldehid ile in vivo arteriyel basınca karşılık gelen 100 mmHg ile perfüze edildi. Rutin elektronmikroskopik takipten sonra scanning elektron mikroskopide (SEM) değerlendirildi.

Işık mikroskopik ve SEM düzeyindeki incelemelerde patolojik hasar endotelial hücre separasyonu, endotelial hücre kaybı, açığa çıkan bazal membran, intimal ve mediyal ödem şeklinde 0-4 arasında skorlandı. Her bir grup için ortalama skorlar elde edildi. Grup 1 (kontrol)de 0.6 ± 0.5 , Grup 2'de (salin-heparin-100 mmHg-28°C) 6.6 ± 0.5 , Grup 3'te (salin-heparin-300 mmHg-28°C) 17 ± 0.7 , Grup 4'te (kan-heparin-100 mmHg-28°C) 5.6 ± 0.5 , Grup 5'te (kan-heparin-300 mmHg-28°C) 12 ± 0.7 , Grup 6'da (kan-salin-heparin-100 mmHg-28°C) 7.6 ± 0.5 , Grup 7'de (kan-salin-heparin-300 mmHg-28°C) 17.5 ± 1.3 olarak bulundu. Grup 4'de veriler diğer grupların skorlarına kıyasla kontrol grubundaki skora en yakın olarak yorumlandı. Bu grupta da her ne kadar bölgesel endotelial kayıp ve endotelial ayrılma görülmüş olsa bile

bu gruba ait (Grup 4) skor, Grup 5'e ($p<0.0001$), Grup 2'ye ($p<0.02$), Grup 3'e ($p<0.0001$), Grup 6'ya ($p<0.0004$) ve Grup 7'ye ($p<0.0001$) göre anlamlı düzeyde iyiydi.

Sonuç olarak safen venlerinin, kan-heparin solüsyonunda ve 100 mmHg basınç altında hazırlanmasının, endotelial yüzeyin korunması açısından en uygun koşul olduğu kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Endotel hasarı, koroner bypass cerrahisi, safen veni.

Otolog safen veni kullanılarak yapılan aortokoroner bypass greftleri erken ve geç dönemde tıkanabilmektedir. Operatif tekniklere ilişkin problemler olarak nitelendirilen kötü distal geri akım, hiperlipidemi, greft iskemisi, ven hazırlama tekniği ve anastomoz tekniği bypass greft başarısızlığına ilişkin sorunlar olarak belirtilmektedir (1,2,3,4,5). Greftlerde gözlenen erken yapısal değişiklikler nedeniyle trombosit-damar duvarı ilişkisi önem kazanmaktadır. Ven hazırlanması sırasında vene yapılan travma tamamen önlenememektedir. Trombositlerin, arteriyel hasardan sonra oluşan vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu, büyük miktarda ekstraselüler matriks oluşumunu ve lipid depolanmasını hızlandıran temel faktör olduğu öne sürülmektedir (6,7). Diğer taraftan greftlerde oluşan fibröz hiperplaziye neden olan mekanizma halen tam olarak anlaşılamamıştır. Fibröz hiperplazinin, endotelial hücrelerdeki akut ve/veya kronik hasar sonucu oluşan aşırı düz kas hücre proliferasyonuna bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Bu olay trombositlerle dolaylı olarak ilişkili bulunmuştur (4,5). Ven greftlerinin hazırlanmasında meydana gelen endotelial hasar, damar duvarı ve trombosit arasında bir dizi kompleks ilişkiyi başlatmaktadır. Bu olay, trombositlerin damar du-

Alındığı tarih: 27 Mayıs 1998

Yazışma adresi: Dr. Hasan Karabulut Baytur 55 Ada Manolya 1-1

Daire: 15 Küçükbakkalköy, Ataşehir 81120 İstanbul

Tel: (0 216) 455 04 34

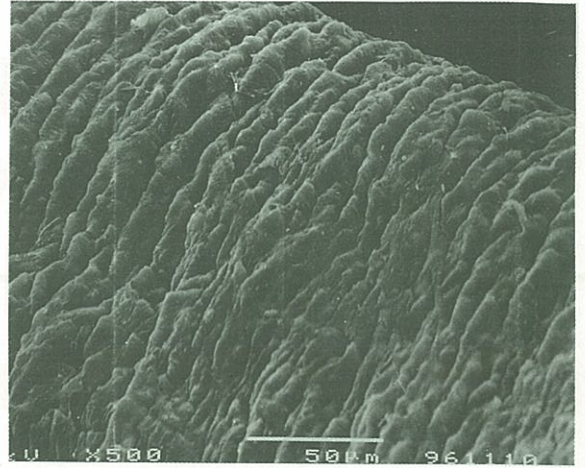
varına yapışması, buna başka trombositlerin ilave olması ve trombositlerden serotonin, adenosin difosfat ve lizozomal enzimler gibi potansiyel harap edici maddelerin açığa çıkması ile gerçekleşir (8,9). Bu faktörler plazmadaki maddelerle birlikte endotel ve perisitlerin kasılarak bağlantı komplekslerinin açılmasını, böylece intimadaki düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve/veya mediadaki düz kas hücrelerinin intima'ya göç etmelerini uyarır. Bu proliferasyona, yeni bağ dokusu oluşumunu ve intraselüler-ekstraselüler lipid birikmesi eşlik eder. Venin greftleme amacıyla çıkarılması çoğu kez tunika adventisyanın bir kısmının soyulmasıyla sonuçlanır. Bununla bağlantılı olarak, kısmen vazo vazorumların kaybına bağlı olarak oluşan iskeminin, kısmen de arteriyel kan basıncına maruz kalmanın bir sonucu olarak endotel tabakasında hasar oluşur (7,8). Endotelin kaybı, intima ve mediada akut ancak reversibl geçici inflamatuvar hücre reaksiyonu ve ödem ile sonuçlanır. Fibrin veya trombüs intima yüzeyinde toplanır. Dört ile altı haftayı kapsayan bir süreçte, düz kas hücrelerinin proliferasyonu, fibroblastlar ve endotelial hücreler, intima kalınlaşmasına neden olurlar (7,8). Bundan dolayı ven hazırlanması sırasında hasara neden olabilecek manipülasyonlar istenmeyen neticelere yol açabilir.

Biz bu çalışmamızda greft olarak kullanılan insan safen veninin bütünlüğünün korunmasında farklı solüsyonların ve basınçların etkisi olabileceğini düşünerek ışık mikroskopik ve tarayıcı elektron mikroskopik düzeyde, farklı solüsyon ve basınç etkisini kıyaslamayı amaçladık.

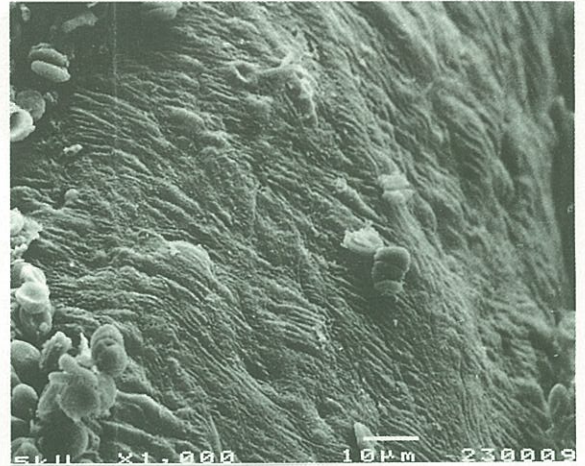
GEREÇ ve YÖNTEM

Aortokoronar bypass greft cerrahisi uygulanacak olan 20 hastanın vena saphena magnası çıkarılarak her hastaya ait 7 grup oluşturmak amacıyla venler her biri 3-4 cm uzunlukta olmak üzere 7 parçaya ayrıldı. Grup 1 (kontrol)'deki ven parçalarına hemen soğuk, tamponlanmış, pH'sı 7.2 olan % 3'lük glutaraldehid ile 30 mmHg basınç ile gerilim uygulandı. Basınç uygulamaları için Datascope monitör, basınç hattı, transdüser, üçlü musluk ve ven ucu kullanıldı. Hastadan alınan ven parçasının bütün yan dalları tek tek 4/0 ipek ile bağlanarak hazırlanıp, karşılaştırması yapılacak solüsyonlar ile hafifçe şişirildi. Burada basınç uygulaması üçlü musluktaki transdüser aracılığı ile monitöre aktararak kaydedildi.

Kontrol grupları için (Grup 1), ayakta dik pozisyonda in vivo hidrostatik basınca karşılık gelen 30 mmHg, diğer solüsyonlar için ise 100 mmHg ve 300 mmHg'lik basınçlar



Şekil 1. Kontrol Grubu (Grup 1): Ven lümenini kaplayan endotel hücrelerinin yüzeyin düzgün topografisini yansıtacak biçimde normal yassı hücreler olarak görünümü



Şekil 2. Grup 4 (Kan - 100 mmHg): Büyük büyütmede yüzeyi oluşturan endotel hücrelerinin muntazam dizilimi

uygulandı. Tüm deneyler boyunca solüsyonların ısıları 28°C'de tutuldu.

Grup 2'de, heparinize normal salin (% 0.9 NaCl) solüsyonuyla (100 cc salin içine 1cc-5000 Ü heparin konuldu), 100 mmHg basınçla, 2 dakika süreyle şişirilmeyi takiben, venler 1 saat aynı solüsyon içinde bekletildi.

Grup 3'de venler heparinize salin solüsyonu ile 300 mmHg'lik basınçla, 2 dakika şişirilerek, yine aynı solüsyonda 1 saat bekletildi.

Grup 4'de heparinize kan kullanıldı, 100 cc otolog kan içine 1 cc (5000 Ü) heparin konuldu. 100 mmHg basınçla, 2 dakika süre ile şişirilen venler aynı solüsyonda 1 saat bekletildi.

Grup 5'de yine 100 cc heparinize kan 300 mmHg'lik basınç ile 2 dakika uygulandı ve takiben venler 1 saat boyunca solüsyonda tutuldu.

Grup 6 ve 7'de 50 ml salin, 50 ml kan karıştırılarak buna

5000 Ü (1 cc) heparin eklendi. Yüz ve üçyüz mmHg'lık basıncın 2 dakika uygulanmasını takiben venler solüsyonda 1 saat bekletildi (Tablo 1).

Basıncı uygulamalarından sonra tüm venler 2 parçaya bölündü. Birinci parçalar, ışık mikroskopi düzeyinde değerlendirme amacıyla, tamponlanmış % 10 formalin solüsyonunda tespit edildi ve yükselen alkol serilerinden geçirildi (% 70, % 90, % 96, % 100). Alkol ile dehidratasyon ve toluen ile şeffaflandırma işlemlerini takiben parçalar parafin inklüzyonu sonrası bloklandı, 4-5 µm kalınlığında alınan doku kesitleri genel damar histolojisini göstermek amacıyla Hematoxylin-Eosin ve Elastik Van Gieson boyasıyla boyanarak ışık mikroskopisi düzeyinde değerlendirildi.

İkinci parçalar kontrol grubu hariç soğuk tamponlanmış (pH = 7.2) % 2'lik glutaraldehid ile in vivo arteriyel basınca karşılık gelen 100 mmHg basınç altında perfüze edildi. Fiksasyonu takiben, ven segmentleri SEM düzeyinde inceleme amacıyla hazırlandı. Bu amaçla, alınan damar kesitleri 0.13 M fosfat tamponu (pH=7.2) içerisindeki % 3'lük glutaraldehid solüsyonunda +4°C'de 2 saat süre ile tespit edildi. Aynı tampon içerisinde hazırlanan % 1'lik Osmium tetroksit ile 1 saat süreli ikinci tespit yapıldı. Dehidratasyon amacıyla, yükselen alkol serilerinden (% 30, %50, %70, %95, %100) geçirilen örnekler 3/1, 1/1, 1/3 oranlarındaki alkol/amilasetat serilerini takiben saf amilasetata alındı. Parçalar, "Kritik Nokta Kurutma" şeklindeki sıvı CO₂ ile belli basınç ve sıcaklık altında kurutuldu. Belli bir basınç altında altın kaplama cihazıyla doku yüzeyleri kaplanarak JEOL JSM 5200 SEM ile incelendi. Patolojik hasar, endotelial hücre kaybı, açığa çıkan bazal lamina, intimal ödem ve mediyal ödem şeklinde değerlendirildi. Bu patolojik hasarlar 0: hasar yok, 1: hafif hasar, 2: orta hasar, 3: şiddetli hasar, 4: çok şiddetli hasar şeklinde skorlandı. Bu değerlerin toplamı değişik greft hazırlama tekniklerinin kullanıldığı 7 farklı gruptaki verilerin patolojik değişkenlerinin sayısal tanımlanması için kullanıldı.

İstatistiksel çalışmalar unpaired t-test kullanılarak yapıldı, p<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Tüm gruplara ait kesitlerin ışık mikroskopisi ve taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile incelenmesi sonucu aşağıdaki sonuçlar bulundu:

Tablo 1. Grupların patolojik hasar ortalama skoru ve uygulanan basınç değerleri

	Solüsyon	Ortalama Skor	Basıncı (mmHg)
Grup 1	Kontrol	0.6 ± 0.5	30
Grup 2	Salin-Heparin-100 mmHg-28°C	6.6 ± 0.5	100
Grup 3	Salin-Heparin-300 mmHg-28°C	17 ± 0.7	300
Grup 4	Kan-Heparin-100 mmHg-28°C	5.6 ± 0.5	100
Grup 5	Kan-Heparin-300 mmHg-28°C	12 ± 0.7	300
Grup 6	Kan-Salin-Heparin-100 mmHg-28°C	7.6 ± 0.5	100
Grup 7	Kan-Salin-Heparin-300 mmHg-28°C	17.5 ± 1.3	300

Grup 1 (Kontrol Grubu)

Işık mikroskopik incelemeler için kontrol grubu venlerden hazırlanan Hematoxylin-Eosin ve Elastik Van Gieson (Verhoeff solüsyonu) boyası ile boyanan kesitlerde, tunika intima, tunika media ve tunika adventisya normal yapıyı yansıtan bölgeler olarak izlendi. Tunika intimada endotel hücreleri yassı hücreler olarak gözlemlendi. Subendotelial tabaka normal yapıda idi.

SEM düzeyinde yapılan incelemelerde, tunika intima, tunika media ve tunika adventisya birbiriyle devamlılık gösteren katmanlar olarak damar duvarında normal yapıda izlendi. Lümeni örten endotel hücreleri normal yassı hücreler olarak izlenirken, damar boyunca yüzeyin topografisi düzenli bir yapıdaydı (Şekil 1).

Grup 2 (Salin-heparin-100 mmHg-28°C)

Hematoxylin-Eosin ve Elastik Van Gieson ile boyanan kesitlerde intima tabakasında dejenerasyon alanları, bölgesel endotelial hücre kaybı ile belirgindi. Ayrıca endotelial bölgede yer yer ayrılmalar dikkati çekti. Tunika mediada kas demetleri arasındaki hafif düzeydeki ödem düz kas demetlerinin birbirinden ayrılması şeklinde izlendi.

SEM düzeyinde yapılan yüzey taramasında, ven duvarının tüm katmanları normal yapıda idi. Endotel tabakasını oluşturan uzamına hücre dizilimlerinin bozulduğu dikkati çekti. Bazı endotel hücre gruplarında yer yer kopma izlenirken, yüzeyde yoğun olmayan fibrin birikintileri gözlemlendi.

Grup 3 (Salin-heparin-300 mmHg-28°C)

Hematoxylin-Eosin ve Elastik Van Gieson ile boyanan kesitlerde, belirgin endotelial hücre hasarı izlen-

di. Endotelial yüzeyde yer yer kopmalar ve ayrılma bölgeleri görüldü. Subendotelial tabakada tunika media ve tunika adventisyada belirgin ödem varlığı dikkati çekti.

SEM düzeyinde, ven duvarında belirgin ödem gözlemlendi. Düzgün bir topografi yansıtmakla beraber endotel hücre kaybına paralel olarak açığa çıkan bazal lamina yapısı dikkati çekti. Bu haraplanmış bölgelerde fibrin ve hücre artıkları belirgin bulgular olarak izlendi.

Grup 4 (Kan-heparin-100 mmHg-238°C)

Hematoxylin-Eosin ve Elastik Van Gieson ile boyanan kesitlerde, kontrol grubuna benzer bir ven duvarı yapısı izlendi. Az sayıdaki endotel hücrelerinde gözlenen vakuolizasyon, bazı bölgelerdeki endotel hücre kaybı ve endotel hücre ayrılması hafif düzeydeki endotel harabiyetini yansıtmaktaydı. Bazı bölgelerde endotel hücre nükleuslarının lümenine doğru yaptığı çıkıntılar hafif düzeydeki dejenerasyonu yansıtan bulgular olarak dikkati çekti. Subendotelial tabakadaki hafif ödem bulgusunun yanı sıra tunika media ve tunika adventisya normal yapıda izlendi.

SEM düzeyindeki bulgular, ven duvarının normal bir morfolojik dizilimde olduğunu ortaya koymakla beraber, subendotelial tabakada yer yer ödem dikkati çekti. Lümenal yüzeyde çok sayıda eritrosit ve fibrin varlığı izlendi. Büyük büyütmeyle yüzeyi oluşturan endotel hücrelerinin muntazam dizilimi belirgindi (Şekil 2).

Grup 5 (Kan-heparin-300 mmHg-28°C)

Hematoxylin-Eosin ve Elastik Van Gieson ile boyanan kesitlerde, yer yer belirgin endotel yüzeyi harabiyeti ile birlikte, endotel hücrelerinin kopma ve ayrılma alanları dikkati çeken bulgular arasında idi. Hasarlı yüzeyde eritrosit kümelenmeleri gözlemlendi. Subendotelial tabakada ve tunika mediada ise hafif ödem izlendi.

SEM düzeyindeki incelemelerde, ven duvarını oluşturan subendotelial tabakada ve tunika mediada ödem gözlemlendi. Lümenal yüzeyde yoğun fibrin ve eritrosit birikimine paralel olarak endotel hücre kaybı ve bundan kaynaklanan bazal lamina görüntüsü izlendi. Büyük büyütme ile yapılan gözlemler, bazı bölgelerde endotel hücre nükleuslarının dışarı çıkıntıları yaptığını ortaya koydu.

Grup 6 (Kan-serum-heparin-100 mmHg-28°C)

Hematoxylin-Eosin ve Elastik Van Gieson ile boyanan kesitlerde, tunika intimada yer yer endotel hücre kaybı izlendi. Tunika media ve tunika adventisyada düz kas demetlerinin birbirlerinden ayrılmaları şeklinde ödem gözlemlendi.

SEM gözlemleri, damar duvarında özellikle tunika mediada ödem varlığını ortaya koydu. Endotel hücrelerinin yer yer döküldüğü, ancak fibrin birikintilerinin yaygın olmadığı dikkati çeken bulgular idi.

Grup 7 (Kan-salin-heparin-300 mmHg-28°C)

Hematoxylin-Eosin ve Elastik Van Gieson ile boyanan kesitlerde, yer yer endotel hücre nükleuslarının lümenine doğru yaptığı çıkıntılar, endotelial tabakada kopmalar dikkati çekti. Tüm tabakalarda yaygın ödem varlığı gözlenen diğer bir bulgu idi.

SEM düzeyindeki bulgular, ven duvarındaki belirgin ödem varlığını ortaya koydu. Kan hücrelerinin seyrek görüldüğü endotelial yüzeyde, hücre kaybına bağlı olarak açığa çıkmış bazal lamina yapısı izlendi.

Materyal ve metod bölümünde belirtilen skorlama sistemine göre SEM ve ışık mikroskopik düzeydeki incelemelerin sonucunda Grup 1'de 0.6 ± 0.5 , Grup 2'de 6.6 ± 0.5 , Grup 3'de 17 ± 0.7 , Grup 4'de 5.6 ± 0.5 , Grup 5'te 12 ± 0.7 , Grup 6'da 7.6 ± 0.5 , Grup 7'de 17.5 ± 1.3 ortalama skorlar elde edildi (Tablo 1). Bu sonuçlara göre en az puan Grup 4 (kan-heparin-100 mmHg-28°C)'de bulundu. Yüz mmHg basınç altında tüm gruplar, kontrol ile karşılaştırıldıklarında, Kontrol-Grup 2 ($p < 0.0001$), Kontrol-Grup 3 ($p < 0.0001$), Kontrol-Grup 4 ($p < 0.00$), Kontrol-Grup 5 ($p < 0.0001$), Kontrol-Grup 6 ($p < 0.0001$), Kontrol-Grup 7 ($p < 0.0001$) şeklinde anlamlı farklılıklar bulundu.

Yüz mmHg basınç altında solüsyonların karşılaştırılmasında Grup 4 ile Grup 2 arasında ($p < 0.02$), Grup 4 ve 6 arasında ($p < 0.0004$) istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. Yüz mmHg basınçlı grupların 300 mmHg basınçlı ve eş solüsyonlarla karşılaştırması yapıldığında Grup 2'nin Grup 3'e göre ($p < 0.0001$), Grup 4'ün Grup 5'e göre ($p < 0.02$), Grup 6'nın Grup 7'ye göre ($p < 0.001$) anlamlı fark taşıdığı görüldü.

TARTIŞMA

Koroner arter cerrahisinde safen ven açıklık oranı anastomozu takiben 1 yıl içinde belirgin olarak azalmaktadır. Bu açıklık oranı ilk yıl için % 50'den % 85'e kadar değişmektedir (17,18,19,20,21,22).

Ven greftleri, venin fonksiyonunu ciddi biçimde kısıtlayan veya tıkanmasına neden olan fibromusküler hiperplazi ve ateroskleroz gibi yapısal değişikliklere uğrayabilirler. Graftlerde gözlenen bu yapısal değişiklikler nedeniyle trombosit-damar duvar ilişkisi önem kazanmaktadır. Operasyon esnasında vene yapılan travma tamamen ortadan kaldırılamaz. Bu travma, trombosit damar duvarı arasında seri bir kompleks ilişkiyi başlatır. Vasküler endotel harabiyetinin intimal fibrinolitik aktiviteyi azalttığı, mural trombosit ve fibrin depolanmasına sebep olduğu, sonuç olarak da trombositlerden potansiyel hasarlandırıcı maddelerin açığa çıktığı bilinmektedir. Bu maddeler vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonuna, ekstraselüler matriks oluşumuna ve lipid depolanmasına neden olmaktadır (6,7).

Nitekim intimal hiperplazinin trombositlerle olan ilişkisi deneysel çalışmalarda uygulanan bypass greftlerinde trombosit agregasyonu ve adhezyonunu inhibe eden ajanların, intimal kalınlığı azaltıcı etkisinin ortaya konması ile desteklenmiştir (23).

Deneysel hayvan çalışmaları safen ven greftlerinde ilk haftalardaki başarısızlığın, özellikle trombozdan kaynaklandığını ortaya koymaktadır (2). İlk yıldaki yüksek tıkanma oranı her yıl için % 2 oranında azalmaktadır (23,24). Erken ve geç greft başarısızlığı arasındaki belirgin oran farkı, bunların 2 farklı nedene bağlı olduğunu düşündürmektedir: erken tromboz ve geç lümenal stenoz veya tıkanma (23,24).

Post-mortem ve cerrahi ven örneklerinin incelenmesi, ilk yılda oluşan lümen tıkanmalarının % 70'inin endotelial hücre kaybının olduğu bölgelerdeki mural trombüslere sekonder olarak geliştiğini ortaya koymaktadır (25). Barboriak (1) ve Reiche (12) ven greftlerinde soyulan endotel üzerinde fibrin ve trombüs gözlerken, Bulkley ve Hutkins (26) ise, operasyonu takiben 1 saat ile 1 ay sonra elde edilen insan ven greftlerinin % 73'ünde intimal trombüsün varlığını saptamıştır. Köpeklerde yapılan deneysel ven greft çalışmaları, hasarlı endotelde açığa çıkmış bazal membran, kollajen ve fibriller üzerine mikrotrom-

büslerin, eritrositlerin ve fibrinlerin yapıştığını göstermektedir (2,27,28,29). Böylece hasarlı endotel varlığı, mural trombüs oluşumunu kolaylaştırıcı bir faktör olarak ortaya çıkmaktadır. Mural trombüsün ven duvar yapısına katılımı ve mitojenlerin salınımı gibi trombosit bağımlı faktörler, miyointimal hiperplaziyi tetiklemektedir (16).

Geç greft yetersizliği, subendotelial fibromusküler hiperplazi veya ateromatöz bir plağa sekonder olarak gelişen fokal veya difüz lümenal stenoz nedeniyle oluşabilmektedir (1,25,26,30). Anastomoz yapılmış ve anastomozu takiben iyileşmiş ven greftlerindeki endotelin altındaki tunika intima hasarlanmamış tunika intimaya göre daha kalın ve daha fazla lipid depolanmasına sebep olacak yapıdadır (13). Dequid JB (31), Jones (30) ve Ross (6) geç intimal trombüs oluşumunda, trombosit-fibrin agregasyonuna sekonder olarak gelişen fibromusküler hiperplazinin rol oynadığını vurgulamaktadırlar. Böylece endoteldeki iyileşmeye rağmen operasyon başlangıcında safen veninin hazırlanmasında, gerek basınç gerekse kullanılan solüsyonun meydana getirdiği endotelial hasar, fibromusküler hiperplaziyi ve geç greft stenozunu veya tıkanmasını hazırlayıcı faktör olarak karşımıza çıkabilir. Bu nedenle yapısal bütünlüğün korunması büyük önem taşımaktadır (6,13,30).

Ven saklama solüsyonu hem teknik, hem de fizyolojik açıdan önemlidir. Solüsyon teknik açıdan implantasyonda yeterli ven gevşemesini sağlamalı, fizyolojik açıdan ise uzun dönemde greft canlılığını koruyucu içeriğe sahip olmalıdır (36).

Gundry (34) ve Angelini (37), morfolojik ve biyokimyasal çalışmalar sonucunda vendeki hasarda saklama solüsyonunun yapısı ve saklama süresinden ziyade, direkt mekanik travmanın ve uygulanan yüksek gerilim basıncının etkili olduğunu öne sürmüştür. Gundry (34), 100 mmHg'dan yüksek basıncın uygulandığı kanda saklanan venlerin en iyi sonucu verdiğini vurgulamıştır. Biz bu çalışmamızda, 100 mmHg basınç uygulanıp deney grubu olan Grup 4'de (kanheparin-100 mmHg), damar duvar yapısını iyi bir koruma yüzeyi yansıtır şekilde kontrol grubuna benzer yapıda izledik. Catinella (33) ise salin solüsyonunda bekletilen venlerde daha iyi damar gevşemesi oluştuğunu öne sürmektedir. Catinella'ya göre, kanın ven duvarındaki kas hücrelerine daha iyi bir enerji substratı sağlaması, ven duvarında kasılmaya neden

olmaktadır. Bu nedenle kanda bekletilen venlerdeki vazospazmın endotel ve düz kas hücresi hasarını tetiklediğini öne sürerek, kanda bekletilen venlerdeki duvar kasılmasını ve endotel hücre kaybını göstermiştir. Ancak buna karşın biz, Grup 4'de diğer deney gruplarına kıyasla en alt düzeyde hasar izledik. Aynı solüsyonu yüksek basınçla (300 mmHg) uyguladığımız Grup 5'te daha şiddetli bir hasar gözlemiş olmamız, oluşan endotel hasarında solüsyon kadar basıncın da etkili olduğunu göstermektedir. Sanchez (36), greft morfolojisi açısından ılık plazmalit solüsyonunun salin solüsyondan daha iyi bir ven duvar gevşemesi yaptığını vurgulamıştır. Lo Gerfo (35), 500 mmHg'ya kadar olan gerilme basınçlarının venin ince yapısına zararı olmadığını öne sürmektedir.

Biz ise, 300 mmHg basınç uyguladığımız tüm deney gruplarında (Grup 3,5,7), yüksek basıncın ven duvarına yaptığı olumsuz değişiklikleri SEM düzeyinde belirgin olarak izledik.

Yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi endotel kaybı, akut fakat geçici inflamatuvar hücre reaksiyonu ile tunika intima ile tunika mediada ödem oluşumuna sebep olmaktadır (4,10,32). Bizim çalışmamızda yüksek basınç gruplarında (Grup 3,5,7) diğer gruplara kıyasla daha belirgin olarak gözlediğimiz endotel hasarı ve damar duvarı ödeminin, erken ve geç dönemde greft başarısızlığında etkisi olacağını düşünmekteyiz.

Ven saklama solüsyonlarının düz kas kontraksiyonuna neden oldukları bilinmektedir (33). Bu solüsyonlar, subendotelyal alanda düz kas hücrelerinin kasılmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda endotel hücreleri lümene doğru çıkıntı yapmakta ve dökülmektedirler (33). Endotel düzeyindeki bu değişiklikleri biz salin solüsyonunun uygulandığı gruplarda (Grup 2,3,7), diğer gruplara kıyasla daha belirgin olarak gözledik. Ancak bu solüsyonu normal basınçla uyguladığımızda (Grup 2'de) ortaya çıkan ven harabiyeti daha hafifti. Bu olgu solüsyon ve basıncın harabiyet oluşumundaki ortak katkısını ortaya koymaktadır.

Çalışmamızın sonucunda, greft olarak hazırlama sırasında, insan safen ven endotelinin özellikle salin solüsyon uygulanmasında ve 100 mmHg'nın üzerindeki gerilim basıncında hasara uğradığını, bulgularımıza dayanarak söyleyebiliriz. İnsan safen veni, nazik bir müdahale (dokunmadan çıkarma tekniği), he-

parinize kan ve fizyolojik basınç tatbiki ile ideal düzeyde korunmaktadır. Endotelin korunmasının ve mural ödemin önlenmesinin, erken dönemde trombus oluşumunu, geç dönemde ise subendotelyal fibromusküler hiperplazi gelişimini önlediğini göz önünde bulundurarak, safen veninin greft olarak hazırlanmasında endotel yüzeyinin korunmasının oldukça önemli olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Panetta TF, Marin ML, Veith FJ, et al: Unsuspected preexisting saphenous vein disease: an unrecognized cause of vein bypass failure. *J Vasc Surg* 1992; 15: 102-12
2. Brady WR, Angel WW, Koiec JC: Histologic fate of venous coronary artery bypass grafts in dogs. *Am J Pathol* 1972; 66: 111-9
3. Barner HB, Fisher VW: Endothelial preservation in human saphenous veins harvested for coronary grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100: 148-9
4. Stanley JC, Sottiuroi V, Fry RE, et al: Comparative evaluation of vein graft preparation media electron and light microscopic studies. *J Surg Res* 1975; 18: 235-42
5. Stiles QR: Technique of saphenous vein aorto-coronary bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979; 78: 305-12
6. Ross R, Glomset JA: The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1976; 295: 377-96, 420-5
7. Schwartz SM, Ross R: Cellular proliferation in atherosclerosis and hypertension. *Prog Cardiovasc Dis*. 1984; 26: 355-72
8. Mehta P, Mehta J: Role of platelet and endothelium in vascular disease. MA. Kisco, New York Futura 1981: 1-21
9. Weiss HJ: Platelet physiology and abnormalities of platelet function. *N Engl J Med* 1975; 293: 531-41, 580-8
10. Abbott WM, Wieland S, Austen WG: Structural changes during preparation of autogenous venous grafts. *Surgery* 1974; 76: 1031-9
11. Bush HL, Jakubowski JA, Curl GR, et al: The natural histology of endothelial structure and function in arterialized vein grafts. *J Vasc Surg* 1986; 3: 204-15
12. Dries D, Muhammed SF, Woodward SC, et al: The influence of harvesting technique on endothelial preservation in saphenous veins. *J Surg Res* 1992; 52: 219-25
13. Minicik CR, Stenerman MB, Insull W: Role of endothelium and hypercholesterolemia in intimal thickening and lipid accumulation. *Am J Pathol* 1979; 95: 131-9
14. Micherel R, Histology: A text and atlas. Third edition 1995 pp. 305-15
15. Stevens A, Lowe J. Human Histology: Second edition Chapter 9. 1997, pp. 139

16. Sternberg S: Histology for Pathologist. Raven Press, New York Chapter 8 1992 pp. 199-209
17. R. Ross: Oxford Textbook of Pathology Vol 1. Chapter 7 Circulatory Disorders 1992 pp. 497
18. Cooley DA: Revascularization of the ischemic myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979; 78: 301-8
19. Grondin CM, Meere C, Castonguay YR, et al: Blood flow through aorto-coronary artery bypass grafts and early postoperative patency: a study of 100 patients. *Ann Thorac Surg* 1979; 12: 574-9
20. Hscoitz SB, Redwood DR, Stinson EB, et al: Saphenous vein bypass grafts, long-term patency and effect on the native coronary circulation. *Am J Cardiol* 1975; 36: 739-48
21. Methe MP, Lie JT, Fuster V, et al: Reduction of intimal thickening in canine coronary bypass vein grafts with dipyridamol and aspirin. *Am J Cardiol* 1979; 43: 1144-8
22. Walker JA, Friedber HD, Flemma RJ, et al: Determinants of angiographic patency of aorto-coronary vein bypass grafts. *Circulation* 1972; 45 (Suppl I): 1-86
23. Compeau, Lesperance J, Corbora F, et al: Late changes in aorto-coronary saphenous vein bypass grafts (5 to 7 years after surgery) *Circulation* 1977; 56 (Suppl III): 111-132
24. Seides SF, Boren JS, Kent KM, et al: Long-term anatomic fate of coronary artery bypass grafts and functional status of patients five years after operation. *N Engl J Med* 1978; 298: 1213-19
25. Unni KK, Kottke BA, Titus JL, et al: Pathologic changes in aorto-coronary saphenous vein grafts. *Am J Cardiol* 1974; 34: 526-32
26. Bulkley BH, Hutchins GM: Accelerated "atherosclerosis". a morphologic study of 97 saphenous vein coronary artery bypass grafts. *Circulation* 1977; 55: 163-9
27. Hoover EL, Ross M, Fani K, et al: Biochemical and histopathologic comparison between blood and saline storage of canine veins. *J Vasc Surg* 1988; 7: 543-8
28. Ts'au CH, Glasgow S: Platelet adhesion to subendothelial components in experimental aortic injury: role of fine fibrins and basement membrane. *Br J Exp Pathol* 1970; 51: 423-9
29. Wyatt AP, Taylor GW: Vein graft changes in the endothelium of autogenous free vein grafts used as arterial replacements. *Br J Surg* 1976; 53: 943-51
30. Jones M, Conkle DM, Ferrans VJ, et al: Lesions observed in arterial autogenous vein graft light and electron microscopic evaluation. *Circulation* 1973; 47, 48 (Suppl III): 198
31. McGregor DC, Agonwal VK, Silver MD: Changes produced in the wall of the saphenous vein of dogs by distending media and pressure. *Surgery* 1972; 23: 135-41
32. Catinella FP, Cunningham JR, Surungaram RK, et al: The factors influencing early patency of coronary artery bypass vein grafts. Correlation of angiographic and ultrastructural findings. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 83: 686-700
33. Gundry JR, Jones M, Ishihara T, Ferrans VJ: Optimal preparation techniques for human saphenous vein grafts. *Surgery* 1980; 80: 785-92
34. Lo Gerfo FW, Quist WC, Crashaw HM, Haudenschild CC: An improved technique for preservation of endothelial morphology in vein grafts. *Surgery* 1981; 90: 1015-24
35. Sanchez AM, Wooldrige TA, Boerboom LE, et al: Comparison of saphenous vein graft relaxation between Plasma-Lyte solution and normal saline solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107: 1445-33
36. Angelini GD, Bryan AJ, Hunter S, et al: A surgical vein technique that preserves human saphenous vein functional integrity. *Ann Thorac Surg* 1992; 53: 871-4