

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**VAZODİLATÖR SOLÜSYONLARLA MEKANİK DİSTANSİYON
UYGULANAN SAFENİN VE NÖROPOPTOZİSİNİN YERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. RAFET TOK**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. ALİ RAHMAN**

ELAZIĞI, 2007

TE EKKÜR

Fırat Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda ara tırma görevlisi olarak çalı tı ım 2001-2007 dönemi boyunca bilgi ve tecrübesi ile teorik ve pratik olarak yeti memde her türlü destek ve yardımı gösteren Anabilim Dalı Ba kanımız ve tez danı manım Doç. Dr. Ali Rahman'a ve Yrd. Doç. Dr. Oktay Burma'ya te ekkür ederim.

Ayrıca tez çalı mamda bana yardımcı olan Doç. Dr. brahim H. Özercan'a ve Prof. Dr. M. Kemal Bayar' a te ekkür ederim.

Asistanlık hayatının her türlü zorluklarını benimle b irlikte payla an ve deste ini hiç esirgemeyen sevgili e ime te ekkür ederim.

Dr. Rafet Tok

Ç NDEK LER

TE EKKÜR.....	II
Ç NDEK LER.....	III
TABLO L STES	V
EK L L STES	VI
KISALTMALAR.....	VII
1. ÖZET	1
1. ABSTRACT	3
3.G R	5
3.1. Normal Venöz Morfoloji	6
3.2. Vena Safena Magna ve Parva	8
3.3. Ven Greftlerin Önemi	9
3.4. Safen Ven Greftin Hazırlanması	10
3.5.Vazodilatörlerin Safen Ven Grefti Üzerine Etkileri	10
3.5.1. Verapamil	10
3.5.2. Nitroglicerini	11
3.5.3. Papaverin	12
3.6. Safen Ven Greft Yetmezli i ve Oklüzyonun Patolojisi	13
3.6.1. Erken Greft Tıkanması	13
3.6.2. Geç Greft Tıkanması	14
3.7. Apoptozis.....	15
3.7.1 Apoptozisin Morfolojisi	16
3.7.2. Apoptotik Süreç	18
3.7.2.1. Ekstrinsik Yol	19
3.7.2.2. ntristik Yol (Mitokondriyal Yol)	20
3.7.3. Proapoptotikler	21
3.7.4. Antiapoptotikler	22
3.8. Damar Duvarında Apoptozis	23
3.8.1. Vasküler Remodeling ve Apoptozisin Etkisi	24
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
4.1. Gruplar	28
4.2. Damar Örneklerinin Alınması Ve Hazırlanması	28
4.3. Histomorfolojik nceleme	28

4.4. mmunohistokimyasal nceleme	29
4.5. statiksel Analiz:	29
5. BULGULAR	30
5.1. Histomorfolojik Veriler:	30
5.2. mmunohistokimyasal Veriler:	32
5.2.1 Bax Boyanması:	33
5.2.2. Bcl - 2 Boyanması:	36
5.2.3. Kaspaz - 9 Boyanması:	38
6. TARTI MA	41
7. KAYNAKLAR	46
8.ÖZGEÇM	58

TABLO L STES

	Sayfa No
Tablo 1: Ölüm Reseptörleri ve Ligandları	19
Tablo 2: Bcl-2 Ailesi	22
Tablo 3: Safen ven gruplarında sayılan hücrelerin yüzde oranları	32

EK L L STES

	Sayfa No
ekil 1 Venöz Damar Yapısı	7
ekil 2 Venöz Kapakçık Fonksiyonu	7
ekil 3 Vena Safena Magna	8
ekil 4 Mitokondriyal Yol	21
ekil 5 Safen venin distansiyon basıncınının monitörizasyonu	27
ekil 6A Kontrol (heparin) ile i irilmi safen ven	30
ekil 6B Papaverin ile i irilmi safen ven	31
ekil 6C Nitrogliserinile i irilmi safen ven	31
ekil 6D Verapamil ile i irilmi safen ven	32
ekil 7A Bax (+) boyanan ortalama hücre yüzdeleri	33
ekil 7B Kontrol grubuna ait safen vendeki Bax (+) boyanan hücreler	34
ekil 7C Papaverin grubuna ait safen vendeki Bax (+) boyanan hücreler	34
ekil 7D Verapamil grubuna ait safen vendeki Bax (+) boyanan hücreler	35
ekil 7E Nitrogliserin grubuna ait safen vendeki Bax (+) boyanan hücreler	35
ekil 8A Bcl (+) boyanan ortalama hücre yüzdeleri	36
ekil 8B Kontrol grubuna ait safen vendeki Bcl (+) boyanan hücreler	36
ekil 8C Papaverin grubuna ait safen vendeki Bcl (+) boyanan hücreler	37
ekil 8D Verapamil grubuna ait safen vendeki Bcl (+) boyanan hücreler	37
ekil 8E Nitrogliserin grubuna ait safen vendeki Bcl (+) boyanan hücreler	38
ekil 9A Kaspaz (+) boyanan ortalama hücre yüzdeleri	38
ekil 9B Kontrol grubuna ait safen vendeki Kaspaz -9 (+) boyanan hücreler	39
ekil 9C Papaverin grubuna ait safen vendeki Kaspaz -9 (+) boyanan hücreler	39
ekil 9D Verapamil grubuna ait safen vendeki Kaspaz -9(+) boyanan hücreler	40
ekil 9E Nitrogliserin grubuna ait safen vendeki Kaspaz -9(+) boyanan hücreler	40

KISALTMALAR

AIF:	Apoptosis Inducing Factor. "Apoptozisi indükleyen faktör".
A DS:	Akut immün Yetmezlik Sendromu
Apaf-1:	Apoptozis proteazı aktive eden faktör-1
ATP:	Adenozin Trifosfat
BH:	Bcl-2 Homolog Bölgesi
CED:	Cell Death (Hücre Ölüm) Genleri
CD:	Cluster of Differentiation
DAG:	Diaçil Gliserol
DD:	Death Domain. "Ölüm bölgesi".
DED:	Death Effector Domain. "Ölüm etkili bölge".
DISC:	Death Inducing Signalling Complex. "Ölüm indükleyen Sinyal Kompleksi".
DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
DNase:	Deoksiribo Nükleaz
DR:	Death Receptor. "Ölüm Reseptörü".
EDRF:	Endotelin Kaynaklı Gevretici Faktör
Egl:	Egg laying defective
FADD:	Fas-Associated Death Domain Protein
FasL:	Fas Ligand
IAP:	inhibitor Apoptotik Protein
c-IAP:	Cellular inhibitor Apoptotik Protein
ICE:	interleukin 1 -Converting Enzyme
IL:	interleukin
IP3:	inositol 1,4,5-Trifosfat
kD:	Kilo-Dalton
MMP:	Matriks Metalloproteinaz
NAIP.	Neuronal inhibitor Apoptotik Protein
NF- B:	Nükleer Faktör B
NO:	Nitrik Oksit
PARP:	Poly (ADP-riboz) Polimeraz
PIP2:	Fosfotidil inositol 4,5-bifosfat

- QACRG:** Gln-Ala-Cys-Arg-Gly
- TCR:** T-Hücre Reseptörü
- TIMP-1:** Doku inhibitör Metalloproteinaz – 1
- TNF:** Tümör Nekrotizan Faktör
- TNFR:** Tümör Nekrotizan Faktör Reseptörü
- TRAIL:** TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand
- TRAMP:** TNF-Related Apoptosis Matrix Protein
- TRADD:** TNFR-Associated Death Domain protein
- TUNEL:** Terminal deoksinükleotid transferaz -mediated dUTP-biotin Nick End-Labeling
- XIAP:** X-linked inhibitor Apoptotik Protein
- VDAC:** Voltage-Dependent Anion Channel. "Voltaj bağımlı anyon kanalı"
- VSM:** Vena Saphena Magna
- VSP :** Vena Saphena Parva

1. ÖZET

Vazodilatör Solüsyonlarla Mekanik Distansiyon Uygulanan Safen Vende Apoptozisin Yeri

Safen ven greftinde olu an endotel hasarının patogenezi günümüzde halen tartışılmaya devam edilmektedir. Safen ven greftinin endotel hasarının fizyopatolojisi için son zamanlarda ileri sürülen teoriler intrinsik venöz duvar anormallikleri nedeniyle olu an hasar ve bunun sonrasında ortaya çıkan endotel harabiyetidir. Yapılan çalı malarda kan damarı duvarının hücresel kompozisyonunun ve morfolojisinin kontrolünde vasküler hücre apoptozisinin rolü olabilece i ileri sürülmü tür. Bu çalı mamızda safen ven grefti hazırlarken de i ik farmakolojik ajanların ilave edildi i solüsyonlarla olu turulan mekanik distansiyonun apoptotik aktivite üzerindeki etkisini ara tırmayı amaçladık.

Çalı maya her iki cinsten, koroner arter bypass greft operasyonu geçirecek varis ve venöz yetmezlik tanısı almamı sa lıklı vena safena magna (VSM)'ya sahip toplam 32 hasta alındı. Grup1 (Kontrol), Grup 2 (Verapamil), Grup 3 (Nitrogliserin) ve Grup 4 (Papaverin) olmak üzere toplam dört grup olu turuldu. Her gruba 8 hasta dahil edildi. Her dört grubun vena safena magnasından doku örnekleri alındı. Doku kesitlerinde immünohistokimyasal boyama ile proapoptotik bax ve kaspaz-9 ve antiapoptotik bcl-2 ara tırıldı.

Histomorfolojik olarak kontrol ve papaverin solüsyonlarla hazırlanan safen vende vasküler yapının bozuldu u, endotel harabiyeti ve aterosklerotik zemine do ru gidi in hızlı oldu u gözlemlendi. Verapamil ve nitrogliserin ile hazırlanan safen vende ise vasküler yapının korundu u minimal düzeyde intimada endotel harabiyeti oldu u gözlemlendi.

mmunohistokimyasal çalı malarda ise tüm gruplarda kullanılan safen ven çalı malarda özellikle bax daha fazla olmak üzere kaspaz hücrelerinin de yo un ekilde boyandı ı gözlemlendi. Bax boyanması anlamlı kabul edilirken tüm gruplarda kaspaz boyanması birbirine yakın so nuçlar elde edildi i için anlamlı kabul edilmedi. Kontrol ve papaverin grubunda bcl-2 az boyanırken verapamil ve nitrogliserin çalı malarında ise daha fazla bcl-2 boyandı ve anlamlı kabul edildi.

Sonuç olarak histomorfolojik olarak endotel harabiyetinin ve aterosklerozise gidi in hızlı görüldü ü papaverin ve kontrol solüsyonlarının kullanıldı ı safen vende apoptotik aktivitenin fazla oldu u , endotel harabiyeti ve aterosklerozisin daha az görüldü ü verapamil ve nitrogliserin solüsyonlarının kullanıldı ı safen vende ise apoptotik aktivitenin daha az oldu u gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Safen ven, Apoptozis, Vasküler duvar

1. ABSTRACT

The Apoptosis in the Saphena Vein on which Mechanic Distention is applied with Vazodilator Solutions

The pathogenesis of the endothelium damage which had occurred on the saphena vein graft is still in discussion, although various theories have been developed. The theories which recently have been brought forth for the physiopathology of the endothelium damage on the saphena vein graft are the damage and the pursuing decadence caused by the intrinsic venous wall abnormalities. It has been urged in researches that, the vascular cell apoptosis can be a part in the control of the cellular composition and its morphology of the wall of the blood vessel. We've aimed in this study, to research the role of apoptotic activity in the achievement of the endothelium damage caused by the mechanical distension developed by the solutions on which pharmacologic agents (used for preparing saphena vein graft) were added, by determining the pro - apoptotic conditions (bax and kaspaz- 9), and the anti- apoptotic conditions (bcl-2).

32 patients who will undergo coroner arterial bypass graft operations of both kind, and who have healthy vena saphena magna without insufficiency in varicose veins and venous, were object to the study. Four groups were formed in total of which Group 1 had 8 patients (Kontrol), Group 2 had 8 patients (papaverine), Group 3 had 8 patients (Verapamil) and Group 4 had 8 patients (Nitroglycerin). Tissue specimens were taken out of the vena saphena magna of each group. Immunohistochemical coloration, and the pro- apoptotic bax and kaspaz- 9 and anti-apoptotic bcl- 2 were researched in the tissue specimens.

It's observed that the vascular structure rendering in the saphena vein (which was prepared with papaverine solutions as a control arrangement in histomorphologic sense) was spoilt, and that a fastidious tendency to the atherosclerotic, and cause endothelium damage. In the saphena vein which was prepared with Verepamil and nitroglycerin, it was observed that the vascular was protected, and that endothelium damage was at minimum level in the intima.

It's observed in Immunohistochemical studies that, the cells of which especially the bax the most, and the kaspaz cells were colored very intensely during the saphena vein studies which were applied by every group. That the Bax was colored seemed semantic, however, the colored kaspaz caused the occurrence of

results which were close to each other, and this wasn't perceived as semantic. The bcl-2 was less colored in the control and papaverine group while in the verapamil and nitroglycerin group more bcl-2 was colored, and this was perceived as semantic.

Finally it's observed that apoptotic activity was acute in the saphena vein where papaverine and control solutions (in which a fastidious tendency to the atherosclerotic, and endothelium damage in histomorphologic sense was encountered) were used, it was also observed that in the saphena vein where verapamil and nitroglycerin solutions (in which a decrease was noticed in endothelium damage and the atherosclerosis) were used, occurred less apoptotic activity.

Key words: Saphena vein, Apoptotic, Vascular wall

3.G R

Favoloro'nun 1968 de ilk kez safen ven greftini koroner by-pass cerrahisinde kullanmasıyla, koroner arter cerrahisi bütün dünyada yaygın ekinde yapılmaya başlandı (1). Günümüzde ise safen ven greftinin çapının geni olması, yeterli uzunlukta olması ve kolaylıkla elde edilebilmesi nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır (2,3).

Koroner bypass cerrahisinde greft olarak kullanılan safen vendede spazm greftin hazırlanması sırasında sıklıkla görülebilirken postoperatif dönemde nadiren olur (4,5,6,7). By-pass sonrası safen ven greftinin tıkanmasının de i ik nedenleri olmakla birlikte hazırlama sırasında oluşan spazmı gidermek için yüksek basınçla i rmeninde rolü oldu ü ünülmü tür (4). Bu amaçla yapılan çalı malarda yüksek basınçla i rmenin safen ven greftinde endotel ve media hasarına yol açtı ı gösterilmiştir (8). Safen ven greftinde oluşan endotel hasarının erken dönemde trombüs geç döneminde ise lipid birikimine yol açarak greftin tıkanmasına yol açtı ı tespit edilmiştir (9,10).

Safen ven greftin hazırlanması sırasında oluşan endotel hasarını önlemek için birçok çalı ma yapılmıştır (10). Bu amaçla vazodilatatör ilaçların (verapamil, nitroglicerini, papaverini) hazırlama solüsyonlarının ilavesinin erken dönemde trombüs oluşumunu geç dönemde ise intimal hiperplazi ve aterosklerozis gelişimini önledi i gösterilmiştir (5,6).

Vasküler endotel harabiyetinin nedenleri tam olarak bilinmemesine rağmen çe itli teoriler geliştirilmiştir. Bunlar arasında ven duvar anormallikleri, hormonal faktörler, ya ş, konnektif doku metabolizmasındaki de i iklikler, valvüler yetmezlik ve artmış enzimatik nedenler sayılabilir. Normal vasküler duvar gelişimi ve yeniden yapılanmasını etkileyen süreçlerden biri de doku kitle ve yapısını düzenleyen programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan "Apoptozis"tir (12). Yapılan çalı malarda moleküler seviyede hücre canlılığını belirleyen faktörlerin ba nda apoptozisi düzenleyen ve bir seri gen ailesi tarafından kontrol edilen proapoptotik ve antiapoptotik sinyaller arasındaki denge nin yer aldığı tespit edilmiştir (11,12).

Postnatal dönemde damarlarda programlanmış hücre ölümü varlığını gösteren çe itli sebepler bulunmaktadır. Apoptozis olarak bilinen bu durum aynı zamanda aterosklerozda, anevrizma oluşumunda ve inflamatuvar damar hastalıklarında

gözlenen damar duvarının yeniden yapılanmasının bir özelliği olarak da kabul edilmektedir (12). Venlerde ise apoptotik ölüm gerçek ven yapısının ve tonusunun ayarlanmasında büyük önemi olan vasküler düz kas hücreleri ile ilişkilidir.

Toksinler, iyonize radyasyon, reaktif oksijen radikalleri, çeşitli kimyasallar, ya lanma veya iskemi sonucu gelişen subletal hasarlar hücredeki apoptotik süreci aktive edebilir. Hücre çekirdeğinde, hücre membranında, mitokondriyumda veya hücre içi herhangi bir bölgeden gelebilecek bir uyarı apoptozu başlatabilir. Özellikle DNA'da oluşan bir hasar önemli bir uyarım olarak bilinir. Ayrıca apoptozis çok sayıda ve çeşitli mediatör tarafından düzenlenir. Bunlar arasında bazı iyonlar, moleküller, genler, proteinler ve hatta organeller bulunmaktadır.

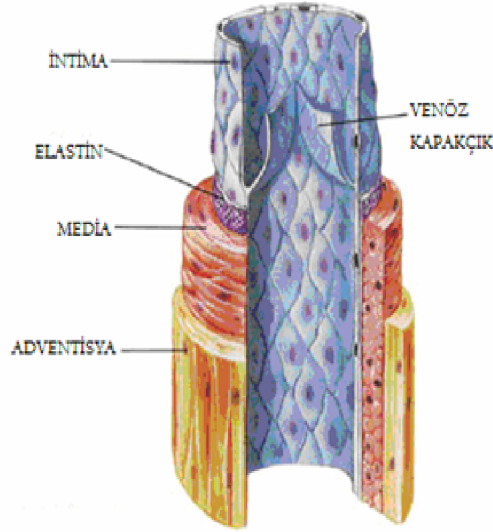
Vasküler endotel hasarının etyopatogenezinde apoptozisin regülasyonu son dönemlerde araştırılmaya başlanmıştır. Gelişme döneminde akut arter hasarı (balon) ve tamir sürecinde, aterosklerotik plaklarda, restenotik lezyonlarda, dejenere safen ven greftlerinde, transplant vaskülopatisinde ve anevrizmatik arter duvarında düz kas hücrelerinde apoptozis gösterilmiştir (13). Bizde bu çalışmamızda safen ven grefti hazırlarken kullanılan farmakolojik ajanların ilave edildiği solüsyonlarla oluşturulan mekanik distansiyonun sebep olduğu endotel hasarında apoptotik aktivitenin etkisini araştırmaya amaçladık. Çalışmamızın sonuçlarının tedavi seçeneklerini geliştirecek sonraki basamaklar için yarar sağlayacağı kanaatindeyiz.

3.1. Normal Venöz Morfoloji

Kan, kapillerlerden başlayan venüller aracılığıyla önce küçük çaplı venlere dökülür. Bu venler ise daha büyük çaplı venleri oluşturduktan sonra vena cava inferior ve vena cava superioru oluşturularak kalbin sağ atriumuna boşalırlar. Venler, duvarları ince olduğu için kolayca gerilir ve fazla miktarda kan tutarlar. Bu yüzden kapasitans damarlar (kan yüklenim damarları, ven yatağı) olarak bilinirler. Bu özellikleri intravasküler basıncı artırmalarını engeller. Kapasitans damarlardan kalbe dönen kan miktarı, kalbin ön yükünü belirleyen önemli bir faktördür (14).

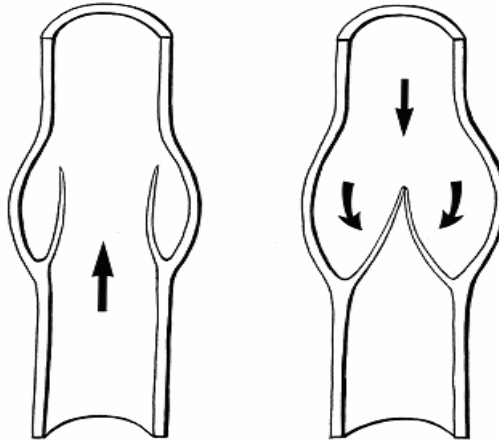
Ven duvarı intima, media ve adventisya olmak üzere üç tabakadan meydana gelmiştir. Intima endotel hücrelerinden, media düz kas hücrelerinden adventisya ise desmoit, kollajen ve elastik liflerden dizili dokusundan oluşur. Endotel hücreleri kısa boylu olup poligonal şekle sahiptir ve bazen ince bir bazal membran üzerine oturmuştur. Dokusundan meydana gelen subendotelyal tabaka ince olup bazen dışta elastik lif ağı ile çevrelenmiştir. Media tabakasını oluşturan sirküler düz

kas hücreleri birbirlerinden, kollajen ve elastik liflerden oluşmuş bir a ile ayrılmıştır. Adventisya tabakası gevrek ba dokusundan meydana gelmiş olup longitudinal seyreden kasın kollajen bandları ve birkaç düz kas liflerini içerir (15).



ekil 1. Venöz damar yapısı

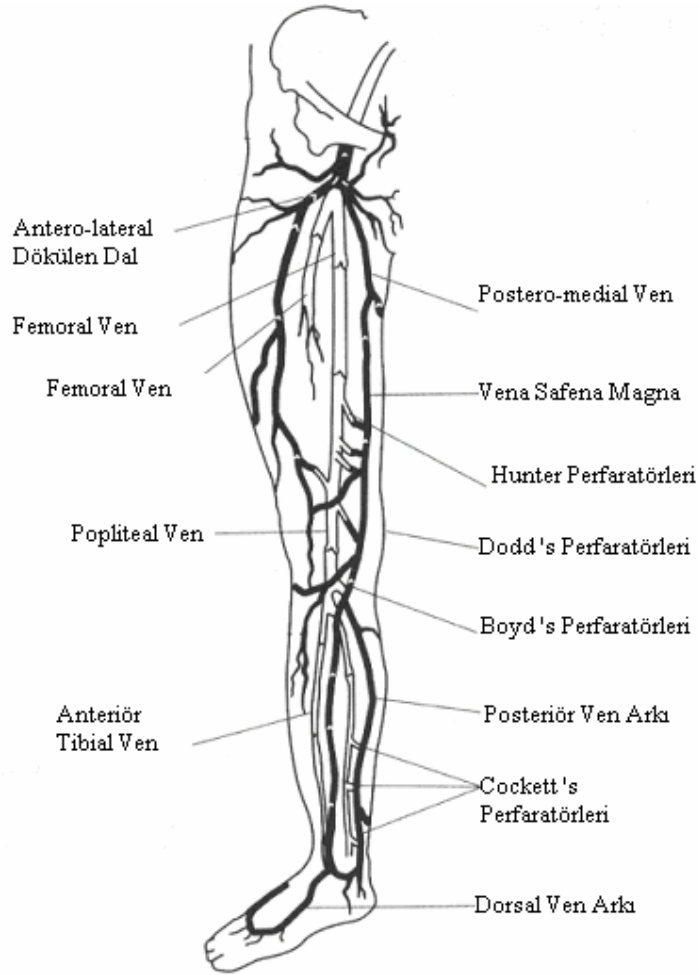
Venöz kapakçıklar iki endotelial kıvrım konkavitesinden meydana gelmişlerdir. Fibroelastik tabaka içerirler ve bu tabaka kapakların sıkılımlarını sağlarlar. Bundan dolayı ven duvarı kapakçık bölgesinden daha incedir (16). Kapakçıkların açılımları akım yönüne doğrudur ve görevleri reflüyü önlemektir (ekil 3).



ekil 2. Venöz Kapakçık Fonksiyonu

3.2. Vena Safena Magna ve Parva

Alt ekstremitelerde venöz dolaşım: yüzeysel, derin ve bunları birbirine bağlayan perforan venler olmak üzere 3 ayrı sistemden oluşur (17). Yüzeysel venler, büyük safen ven (vena safena magna) ve küçük safen ven (vena safena parva) olarak bilinir. Yüzeysel venler membranöz fasyanın üstünde seyrederek ve derin venler gibi kas kompartmanında yer almadıkları için destek dokusundan yoksundurlar. Vena safena magna (VSM) ayak dorsalinde v.marginalis medialis'in devamı olarak dorsal venöz arkdan başlar, iç malleol önünden geçip, baldır iç yüzünde ilerleyerek popliteal bölgeye posteromedial kenarından uyluk iç yüzüne gelir. Buradan yukarı çıkarak yüzeysel inguinal bölgede fossa ovalisten femoral vene dökülür (17). VSM, v.communicans'lar aracılığıyla vena safena parva ile v.perforans'lar yardımıyla da derin venöz sistemle bağlantı kurar (18).



ekil 3. Vena Safena Magna

Postero-medial uyluk veni ve antero-medial uyluk veni gibi di er dallar kası ın yakınlarında safen sistemde sonlanır. Bu venlerden her biri buldukları bölgelerde variköz kümelere dönü ebilir (17).

Vena safena parva (VSP) ise ayak lateralindeki dorsal venöz arkta n ba layarak baldır orta kesiminden yukarı çıkar ve VSM' d en farklı olarak derin fasyayı penetre ederek popliteal vene dökülür. Variköz venlerin olu umunda VSP'd en daha çok VSM sorumludur (17).

Yüzeyel venlerde distalde kapakçık sayısı proksimalden fazladır. Bile ke bölgelerindeki kapakçıklar daha kuvvetli olup, kapakçık içeren kısımlardaki ven duvarında belirgin sinüzoid geni lemeler vardır. VSM' de en az 6 kapakçık vardır. Bunlardan biri, olguların %85'inde safeno-femoral bile kenin 2-3 cm distalindedir. Küçük safende ise kapakçıklar birbirine yakın olup sayıları 4-13 arasında de i ir (17). Venöz sistemin ısı regülasyonu, ta ıma, muskulo-venöz pompa yanında di er önemli bir görevde kan depolamadır (20). Venöz segment volümü arterden üç kez daha fazla olup total kan volümünün %64' nü olu turur (20). Alt ekstremitte yüzeyel venler ise bu volümün % 15-20'sini olu tururlar. Böylece kolay ula ılabilir olması ve dü ük volum kapasitesi nedeniyle çıkarılmaları sonrasında komplikasyon çok az görülür. Bu yüzden alt ekstremitte yüzeyel safen venleri koroner arter bypass ve periferik damar cerrahisinde sıklıkla kullanılır.

3.3. Ven Greftlerin Önemi

Safen venin çapının geni olması, anatomik olarak uzun seyretmesi, spazm olmaması ve çıkarılmasındaki kolaylık nedeniyle koroner bypass cerrahisinde TA ile birlikte en çok kullanılan grefttir. Ayrıca safen ven greftin uzun ve katlanabilir olması, enfeksiyona dayanıklı olması, daha az trombojen olması, manüplasyona uygunlu u, uzun süre canlılı ını koruması ve elde etme kolaylı ı nedeniyle özellikle periferik damar cerrahisinde, sık kullanılmaktadır (21). Politetrafloroetilen (PTFE) gibi suni damar greftlerin minimal düzeyde yabancı cisim reaksiyonu olu turması, tromboza dirençli olması ve safen greftlerine göre açıklık oranlarının dü ük olması nedeniyle periferik damar cerrahisinde ancak alternatif gre ft olarak kullanılmaktadır (22).

Yapılan bir çalı mada infragena l ilk yıllık greft açıklı ı safen grubunda %100, PTFE'de %60 bulunmu tur. İk be yıllık greft açıklı ı ise safen grubunda %69 iken, PTFE grubunda e açıklık tespit edilememi tir (23).

3.4. Safen Ven Greftin Hazırlanması

Safen ven greft hazırlanma ekli gerekli olan uzunlu a göre de i mektedir. ap uyumu nedeniyle ayak bile inden ba lamak tercih edilir. Diz altında safenöz sinir büyük safen venin hemen yanında seyretti i için korunmalıdır. Ven hazırlandı ı ilk yerden kanüle edilerek dü ük bir basınç (<150 mmHg) ile iirilerek çevreleyen doku venin üzerinde kalmayacak ekilde diseksiyon yapılmalıdır. lem sırasında endotel hasarını önlemek için ven sadece adventisyadan atravmatik vasküler bir penset ile tutulmalıdır. Yan dallar için mümkün oldu u kadar klip tercih edilmeyip ven hafif iirilmi halde duvara 1 mm mesafede ba lanmalıdır. Ven duvarında olu abilecek yırtıklar veya çok kısa bırakılmı dallar 7-0 prolendiki ler ile hemostaz sa lanacak ekilde yani ven iirilirken boylamasına geçilmelidir. Yeterli uzunluk sa landıktan ven proksimal ve distalden kesilir. Ven dü ük basınçla iirilerek gözden kaçan dallar ba lanıp heparinli kanda muhafaza edilir.

Safen venin uzun dönemde açıklık oranlarının, çıkarılma a masında olu abilen endotel hasarında rolünün oldu u gösterilmi , bu yüzden vene minimal dokunma ve dü ük basınçla (intraluminal basınç< 150 mmHg) iirme önem kazanmı tır (24).

3.5.Vazodilatörlerin Safen Ven Grefti Üzerine Etkileri

Safen ven greftini hazırlanması sırasında olu an spazmı gidermek için yüksek basınçla distansiyon uygulanır. Yüksek basınçla distansiyon intima ve media tabakasında hasar yaparak greftin tıkanmasına neden olur (25). Safen ven grefti hazırlanması sırasında vazodilatörlerin kullanılması, yüksek basınçla distansiyonun ihtiyacını azaltır ve uzun dönem patensi sa layabilir (26). Papaverin, kalsiyum kanal blokerleri ve nitrogliserin gibi vazodilatör ilaçlar venlerde güçlü relaksasyon sa ladıklarından dolayı sıklıkla kullanılmaktadırlar (26).

3.5.1. Verapamil

Fenilalkamin grubu kalsiyum antagonistlerinin en tanınmı ı papaverin türevi olan verapamil, suda çözünme özelli i olup pH'da iyonize olur. Kalsiyum blokajı etkisi sadece arter düz kasında de il, aynı zamanda kalp kası üzerinede etkilidir. Verapamil kalsiyum antagonisti etkisiyle sinüs dü ümünün (nodül) aktivitesini deprese eder, atriyo-ventriküler dü ümde iletiyi azaltır ve myokardın kasılabilirli ini dü ürür. Ayrıca vazodilatör etki de olu tur ur.

Kalpte ie yönelik Ca⁺ akımlarının sino-atrival dm hücrelerinin depolarizasyonu ile implus olu turmasında ve bunun yayılmasında etkili olup ayrıca elektromekanik kenetlenmesinde önemli rolü vardır. Verapamil sınıf IV antiaritmiklerin prototip ilacıdır. Sinuzal otomatizmi ve atriy-ventriküler dmde iletiyi azalttı ndan supraventriküler ta ikardilerde ba arı ile kullanılmaktadır. Ventriküler ta ikardide kullanılırsa kardiyovasküler kollapsı ve ventrikül fibrilasyonunu presipite edebilir.

Verapamil akut ya da kronik fibrilasyonu sinüs ritmine döndürmede etkisizdir, ancak atriy-ventriküler nodldeki iletiyi deprese ederek atrial fibrilasyona kar ı ventriküllerin yanıtını azaltır. Bu nedenle verapamil kronik atrial fibrilasyonda stres anında ventrikül hızını digoksenden daha etkin bir ekilde baskılamaktadır.

Verapamil güçlü bir vazodilatördür. Koroner damar düz kasları üzerine olan güçlü gev etici etkisi vardır. Periferik direnci drmesine kar ın, verapamil kalp hızında refleks artı olu turmaktadır. Verapamil 15.7 µg/mL konsantrasyonunda insan safen veninde güçlü vazodilatör etki gösteren özellikle nodal doku üzerine etki etmesi ile klinikte antiaritmik olarak sıklıkla kullanılan kalsiyum kanal blokeridir (27).

Özellikle AV nodu içine alan reentry ta ikardilerini sonlandırmak kullanılan negatif inotropik etki gösteren bir ilaçtır. Organ banyolarında özellikle potasyum gibi voltaj ba ımlı kontraksiyonlar üzerine etkilidir (28). Verapamilin etkisi üç dakikada ba lar, iki saatten uzun süre devam eder (26).

3.5.2. Nitrogliserin

Nitrogliserin güçlü klasik bir vazodilatördür, damar düz kaslarındaki spesifik reseptörlere ba lanıp bisülfit ba larını olu turarak gev etir. Nitrogliserin 7.2 µg/mL konsantrasyonunda insan safen veninde güçlü vazodilatör olup iskemik ortamda ba langıç dozu 10 µg/kg/dk dır (26).

ntaselller nitrik oksit salınım mekanizması ile iskemide spazmı antagonize etmektedir ve kalsiyum kanal blokerlerinden daha az selektivite göstermektedir (28). Nitrogliserinin etkisi bir iki dakikada ba lar, yarım- bir saatte biter (26).

Koroner ve çevrel damar yapıları olmak üzere, damar düz kas yapılarını etkileyerek genel bir vazodilatasyon etkisini gösterir. Dk dozlarda venlerde seçici vazodilatasyon meydana gelirken, daha yüksek dozlarda sistemik vasküler rezistans drr.

Nitrogliserin kardiyovasküler hastalıklarda kullanım sahası geniştir ve esas olarak miyokard iskemisinin tedavisi ve konjestif kalp yetmezliğinin tedavisi olarak iki grupta toplanır. Şemide nitrogliserinin yararlı etkileri, koroner vazodilatasyonla oksijen sunumunu artırarak ve preloadı düşürüp miyokardial oksijen gereksinimini azaltarak kendini gösterir. Nitrogliserinin antianjinal etkisi esas olarak venodilatasyon yapıp preloadı azaltması ve sonuçta miyokardial duvar gerilimini düşürmesi ile meydana gelir. Konjestif kalp yetmezliğinde ise nitrogliserin, kalbin yükünü azaltarak etkili olmaktadır. Tedaviye infüzyon eklinde 5 µg/dk dozu ile başlanır.

3.5.3. Papaverin

Papaverin afyon bitkisinden elde edilen analjezik ve bağımlılık potansiyeli olmayan bir alkaloiddir. Tüm düz kaslarında gevşetici etkiye sahiptir. Hipotansiyon yapıcı etkisi nedeniyle sistemik kullanıma elverişli değildir. Asıl etkisini fosfodiesteraz etkisi inhibisyonu ile hücre içi cGMP seviyesini artırarak gösterir. Papaverin düz kas hücrelerine kalsiyum girişini inhibe ederek, kalsiyumun hücre içi depolarından salınımını azaltarak, hücreye adenosin alınımını artırarak veya fosfodiesteraz inhibisyonu ile sürekli adenosin monofosfat seviyesini artırarak relaksasyon sağlar (29). Aynı zamanda hücre içine kalsiyum girişinin ve sitozolde depolanmış kalsiyum salınımının inhibisyonu ile etki göstermektedir.

Yüksek konsantrasyonlarda kontraksiyonun sebebi ne olursa olsun relaksasyon etkiye sahiptir. Bu özelliği ile arteriyel greftlerde yeterli vazorelaksasyon yaptırılarak sürdürülmü ve bu amaçla sıklıkla kullanılmaktadır. Papaverinin lokal kullanımına ilişkin en önemli sorun, kuvvetli bir asidik yapıya sahip olmasıdır. Kuvvetli asidik yapının endotele zarar verdiği gösterilmiştir. Ayrıca papaverin hidroklorid asit olmayan solüsyonlarda beyaz çökeltiler oluşturur.

Topikal olarak adventisya üzerine uygulanarak kullanılması etkili iken, endotel yapıya zarar verici etkilerinden dolayı intraluminal kullanımından kaçınılmalıdır. Papaverin organ banyolarında 37.5 µg/mL konsantrasyonunda safen ven greftinde güçlü non selektif vazodilatör etkisi, altı dakikada başlanır (26). Papaverinin safen ven grefti hazırlanmasında kullanımı sınırlıdır. Asidik yapısı (pH 3-4) ve prostasiklin düzeyini azaltarak, ven duvarında ultrastrüktürel hasar yaptırılarak tespit edilmiştir (30).

3.6. Safen Ven Greft Yetmezli i ve Oklüzyonun Patolojisi

Safen venin mediası, kalın sirküferensiyal düz kas hücrelerinden oluşur ve intra luminal basınç arttığında, atriyel greftlere nazaran daha çok intimal ve medial hasara uğrar (31). Dikkatsiz cerrahi müdahaleler safen ven greftinin endotel ve mediasında hasara yol açar. Safen ven greftinin endotel hasarı tromboz, hiperplazi ve greftin tıkanmasına yol açar.

Yapılan çalımlarda endotel endotel hasarlanmasında bazal membranın açığı çıktı, mikrotrombüslerin ve eritrositlerin kollajen ve fibriller üzerine yapışması gözlenmiştir (32). Böylece endotel hasarı, mural trombüs oluşumuna kolaylaştırıcı bir faktör olarak görev yapmaktadır. Mural trombüsün ven duvar yapısına katılması ve mitojenlerin salınması gibi trombosit bağımlı faktörler safen ven greftinde intimal hiperplaziyi tetiklemektedir (33). Koroner bypass cerrahisinde kullanılan safen greftlerinde görülen tıkanmalar erken ve geç dönem tıkanıklar olarak iki başlıkta görülür.

3.6.1. Erken Greft Tıkanması

Greftlerde gözlenen erken yapısal değişiklikler de trombosit-ven duvar ilişkisinin önemli bir yeri vardır. Trombositlerin endotel hasarından sonra oluşan vasküler düz kas hücre proliferasyonunu, fazla miktarda ekstrasellüler matriks artımını ve lipid birikimini hızlandıran temel faktör olduğu düşünülmektedir (25). Nitekim intimal hiperplazinin trombositlerle olan ilişkisi; deneysel çalımlarda trombosit agregasyonu ve adhezyonunu inhibe eden ajanların safen ven greftlerinde intimal hiperplaziyi azaltıcı etkisinin ortaya konmasıyla desteklenmiştir (34).

Safen ven greftlerinin hazırlanması sırasında oluşan endotel hasarı, damar duvarı ile trombositler arasında bir dizi kompleks ilişkiyi başlatmaktadır. Endotel hasarı, trombositlerin damar duvarına yapışmasına başka trombositlerin buna ilave olmasına ve trombositlerden serotonin, adenosin difosfat, lizozomal enzimler gibi potansiyel harap edici maddelerin açığa çıkmasına neden olur (35). Bu faktörler plazmadaki maddelerle birlikte endotel ve perisitlerin kasılarak başlatılan kompleksinin açılmasını, böylece intimaldeki düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve mediadaki düz kas hücrelerinin intimala göç etmesini etmelerini uyarır. Bu proliferasyona, yeni baş dokusu oluşumu ve intrasellüler-ekstrasellüler lipid birikmesine elverişlidir. Fibrin veya trombüs intima yüzeyinde toplanır (35).

Safen ven greftlerinin %13-14' lik bölümü postoperatif ilk birkaç ay içinde tıkanmaktadır (36). Post-mortem ve cerrahi ven örneklerinin incelenmesi, ilk yılda olan bu safen ven greft tıkanmalarının % 70'inin, endotel hücre kaybının olduğu bölgelerdeki mural trombüslere sekonder olarak geliştiği ortaya koymaktadır (37). Barboriak ve arkadaşları (38) ven greftlerinde soyulan endotel üzerinde fibrin ve trombüs gözlerken, Bulkley ve Hutckins (41) ise ameliyatı takiben bir saat ile bir ay sonra elde edilen insan ven greftlerinin % 73'ünde intimal trombüsün varlığını saptamıştır.

Postoperatif birinci yılda safen ven duvar intimasında ve düz kas hücrelerinde proliferasyon başlar (39). Her takip eden yıl intimal hiperplazi artar ve yıl başına % 2 greft tıkanması meydana gelir (40). Safen ven greftlerinin % 50'inde 10 yıl içinde tıkanma, geriye kalan % 50'sinde belirgin aterosklerotik değişiklikler gözlenir.

3.6.2. Geç Greft Tıkanması

Geç greft tıkanması, subendotelyal fibromusküler hiperplazi veya ateromatöz bir plak sekonder olarak gelişen fokal ya da diffüz lüminal stenoz nedeniyle oluşmaktadır(41). Ross ve Gjomset (42) geç intimal trombüs oluşumunda, trombosit-fibrin agregasyonuna sekonder olarak gelişen fibromusküler hiperplazinin rol oynadığını vurgulamıştır. Böylece endoteldeki iyilemeye rağmen, operasyon başlangıcında safen venin hazırlanmasında, gerek basınç gerekse kullanılan solusyonun safen ven greftinde meydana getirdiği endotel hasarı, fibromusküler hiperplaziye ve sonuçta geç greft stenozuna veya greft tıkanmasına yol açmaktadır. Bu nedenle koroner bypass için hazırlanan safen ven greftlerinin bütünlüğünün korunması, özellikle endotelin korunması, büyük önem taşımaktadır (42).

Safen ven greftlerinde aterosklerozun hızlı gelişimi fizyolojik ve biyokimyasal faktörlerin kombinasyonu ile olur. Greftteki gelişimi vasküler hemodinaminin rolü önemlidir (34). Türbülans ve girdap kanalları plak oluşumunu artırabilir. Aynı şekilde biyokimyasal değişiklikler önemlidir. Özellikle lipid metabolizmasındaki değişiklikler önemli rol oynar (30). Venöz doku, hiperlipidemik ortamda arteriyel dokuyla karşılaştırıldığında lipit alımında daha fazla afiniteye sahiptir (40).

Endotel hasarının, platelet degranülasyonu, tromboksanA2 salınımı ve nötrofil aktivasyonu, immünglobulin toplanması ve kompleman aktivasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (43). Diffüz aterosklerotik safenlerde lipoproteinlerle immün kompleks

olu turmu immunglobinlerin saptanması, C3 -ba lı plakların bulunması bunlarında lipitler gibi aterosklerozda rol oynayabileceklerini gösterir (44).

Aterosklerotik de i iklikler safen ven greftlerinde postoperatif 3 -6 ay kadar erken dönem olu abilir. Safen ven greftlerinde % 30'unda 3 yıl içinde histopatolojik olarak aterosklerotik de i ikler saptanmı tır (41). Açık greftlerin %14'ünde 6 yılın sonunda, % 50'sinde ise 10 yılın sonunda anjiyografik olarak aterosklerotik de i iklikler saptanmı tır (45).

3.7. Apoptozis

Hücre ölümüyle ilgili ilk bilgiler 1920 yılında ı k mikroskopunun ve yeni boya yöntemlerinin ke fiyle ba lamı olup ilk olarak nekroz tanımlanmı tır (46). Son otuz yılda histopatoloji, genetik ve moleküler biyoloji alanındaki yo un ara tırmalar bütün hayvansal hücrelerin kendilerini öldü recek bir genetik düzene e sahip oldu unu ortaya koymu tur. Multiselüler organizmalarda hücre sayısının kontrolü, hücre ço alması ve hücre ölümü arasındaki dengenin devamı ile sa lanır (47). Normal ko ullarda zedelenmi veya ya lanmı hücreler organizmanı n hücre sel homestazının sa lanması için apopitozis olarak adlandırılan ve enerji gerektiren bir tür hücre ölümü ile kendilerini feda ederler (48). Apopitoz programlı ve fizyolojik bir ölüm ekli olması nedeniyle bu dengenin sürdürülmesinde önemli rol oynar . Bu ölüm ekli ilk kez, 1972 yılında Kerr ve arkada ları (49) tarafından iskemiye maruz kalan dokunun etrafında nekrozdan daha farklı hücre ölümü gösterilmi ve buna Latince sonbaharda a aç veya çiçeklerden kuruyan yaprakların dü mesi anla mında '**apoptosis**' sözcü ü ile adlandırılmı tır. Apopitozis ve embriyogenesis, immün repertuarın geli imi ve iltihabi olayların rezolusyonu gibi birbirinden farklı birçok süreçte istenmeyen hücrelerin eliminasyonu için gerekli bir olaydır. Yine, apopitozis ve hücrelerin ortadan kaldırılması arasındaki denge organizmanın iltihabi olaylardan veya otoreaktiviteden korunması için önemlidir (50).

Apopitozis embriyonun geli mesi, metamorfozis olaylarında ve sa lıklı eri kin dokularda süregelen fizyolojik bir hücre ölümüdür. Bunun dı nda endokrin dokularda kantrofik hormon konsantrasyonunun dü mesi sonucu olu an atrofi, neoplazmlarda kendili inden veya kemoterapi, iyonize radyasyon ve hipertermi tedavileri sonrası görülen ölüm ile allerjilerde T lenfositlerin hedef hücreye olan etkisi apopitoz yoluyla gerçekte ir (51).

Embriyo döneminden ba layarak tüm ya am boyunca apopitotik mekanizma ve programlı hücre ölümü vardır. Bazı hücreler yıllarca ya arken bir kısmı sadece birkaç saat ya arlar. Deri, gastrointestinal ve immün sistem gib i pek çok dokuda devamlılık apopitozis ve hücre yenilenmesine ba lıdır (52).

Apopitozis fetusta normal doku geli iminin temel özelli idir (53). Normal eri kin dokularında ise hücre büyümesi ve apopitozis bir denge içindedir. Bu dengenin biri lehine bozulması çe itli patolojilere yol açmaktadır. Genetik hücre ölüm programının hatalı ekspresyonu veya apopitotik hücre ölüm programının eksik uygulanması çe itli karsinom, A DS, viral infeksiyonlar ile otoimmün, nörodejeneratif ve iskemik hastalıkların geli mine zemin hazırlamaktadır (53).

Caenorhabditis elegans isimli nematod üzerinde, 1990'ın ilk yıllarında yapılan ayrıntılı çalı malar, apopitozisin genetik ve moleküler mekanizmalarının anla ılmasında oldukça yardımcı olmu tur. Bu organizmada bulunan 1090 hücre den tam olarak 131 tanesi apopitozis ile ölür ve geriye kalan 959 hücre eri kin nematodu olu turur (54). Caenorhabditis elegans ile ilgili çal ımlar apopitozisin birbirini izleyen dört evresi oldu unu göstermi tir:

- 1-Hücreyi intihara götüren hücre içi veya hücre dı ı uyarılma
- 2-Hücre içi proteazların aktivasyonu ile hücrelerin öldürülmesi
- 3-Apopitotik hücrelerin di er hücreler tarafından ortadan kaldırılması
- 4-Apopitotik hücre parçacıklarının lizozomlar içinde yıkılması (54).

3.7.1 Apoptozisin Morfolojisi

Hücre ölümü nekroz ve apopitoz olmak üzere ba lıca iki eilde meydana gelir. Nekroz ve apopitoz arasında biyolojik ve morfolojik belirgin de i iklikler vardır. Nekroz kimyasal ve fiziksel zararlanmaları takiben ortaya çıkan patolojik bir ölüm eklidir. Ba ta mitokondrium olmak üzere sitoplazmik organeller hasar -lanır, hücre membranı selektif permeabilitesini kaybeder ve i erek rüptüre olur. Hücre içeri i çevre dokuya yayılarak, inflamatuvar bir cevaba neden olur (55). Apopitotik hücrede, nekrozun aksine en çarpıcı de i iklik çekirdekte meydana gelir.

Apopitozide hücreler tek tek etkilenir, hacimce küçülür, kom u hücrelerle temasını kaybeder (mikrovillus gibi özel yüzey farklanmaları ve di er hücrelerle olan ba lantı yapıları bozulur). Bu olay hızla gerçekleşirken aynı anda hücrede de i ik yüzey çıkıntıları ve kıvrıntılar olu ur. Bunların membranla çevrili olarak hücreden ayrılmasıyla "apopitotik cisimler" meydana gelir (51).

Apoptoziste ana morfolojik olay, nükleusun kondensasyonu ve daha sonra parçalara ayrılmasıdır. Kromatin, normalde mikst kondens bir yapıda olup daha diffüz görünümde dir. Apoptoziste süperkondens bir hal alarak nükleus zarı altında kresentik görünüm olur. Floresan boyamada DNA boncuklanmalar ekilde görülür, bunun nedeni DNA'nın endonükleaz ile oldukça özgül ekilde internükleozomal bölgelerden parçalara ayrılmasıdır. DNA'yı parçalayan enzim ise Ca/Mg-ba ımlı bir endonükleazdır (56).

Ormerod ve arkadaşları (57) insan over kanseri hücrelerine cisplatin vererek yaptığı ı çalı mada hücrelerin apoptozis yoluyla öldü ünü gözlemi tir. Bu hücrelerin önce büyük kromatin parçalara bölündü ünü ve bu sırada kromatin yapısında morfolojik de i ikliklerin saptandı mı göstermi lerdir.

Apoptozisin erken evresinde hücreler birle me bö lgelerinden ayrılır, özelle mi yüzey organellerini kaybedip belirgin ekilde büzülür ve birkaç dakikada hacimlerinin 1/3'ünü kaybederler. Hücre yüzeyinde sitoplazmik çıkıntılar "bleb" meydana gelir. Tüm bu görünüm ler muhtemelen plazma membranında bulunan iyon kanalları ve pompalarında aktivasyonun bozulmasına ba lıdır. I ık mikroskopunda apoptotik hücrelerin bulundu u dokulardan elde edilen kesitler incelendi inde hücreler etrafında açık bir halo görünümü gösterirler. Büzülen ve küçük parçalara ayrılan yapılar protein çapraz ba lanmalar ile stabilize edililer (46,47). Transglutaminaz sitoplazmik proteinlerde çapraz ba ların olu masına neden olur. Nitekim apoptotik hücrelerde deterjanlardan etkilenmeyen protein bir kabuk vardır. Scanning elektron mikroskopunda epidermisin kornifiye hücreleri gibi kıvrıntılı görülürler (58). Bu hücrelerde endoplazmik retikulum geni ler, geni lemi sarnıçların hücre yüzeyi ile birle mesi sonucu hücre yüzeyinde krater gibi oyuklar gözlenir. Hücre iskeleti filamanları hücre yü zeyine paralel kenarlarda toplanır. Endoplazmik retikulum dı nda di er hücre organelleri yapılarını korurlar. Sitoplazma yo unlu u arttı ı için organeller kalabalık görülür. Mitokondriyumlar, nekrozla ölen hücrelerin aksine ba langıçta itibaren normal yapıdadır. Nekrozdan farklı olarak apoptoziste hücre zarı sa lamdır, bu nedenle de inflamasyona neden olmaz (51).

Sonuçta yüzey çıkıntıları plazmalemma ile beraber hücre yüzeyinden ayrılır ve membranla çevrili yuvarlak veya oval apoptotik cisimler meydana g elir. Bunların sayısı, büyüklü ü ve içeri i hücrenin tipine göre de i ir. Bazıları, yo unla mı sitoplazmayla beraber bir veya daha fazla nüklear parça içeriyorken bazıları sadece

sitoplazma elemanlarını içerir. Nüklear içerik bulunması cismin büyüklüğüne bağlıdır (51). Oluşan bu apoptotik cisimler hücreler arası doku aralıklarına dağılırlar veya lümene dökülürler. Mononükleer fagositik sistem veya komşu epitel hücreleri tarafından fagosite edilirler (51). Apoptotik hücrelerin tanınması, plazma membranındaki değişikliklerle olur. Apoptotik hücrede plazma membranı fosfolipid asimetrisinin kaybolduğu gözlenmektedir. Normalde fosfatidil kolin ve sfingomyelin 1 fosfolipid başlı gruplarının sık paketlenmesini sağlar ve hücre dışında yer alır. Buna karşın fosfatidilserin ve fosfatidil etanolamin iç yüzeyde bulunur ve bu kenarın daha gevrek paketlenmesini sağlar (59). Fagositik hücrelerin vitronektin ve lektin özelliğindeki reseptörleri, fosfatidilserin ile bağlanarak fagositozu uyarır (60).

Dokuda 4-9 saat tanınabilir halde kalan apoptotik hücreler daha sonra fagozomlar içinde birkaç saat görülebilir, sonra da sindirilemeyen materyal olarak kalırlar. Apoptotik cisimlerin sindiriminde fagositik hücrenin lizozomal enzimleri rol oynar. Kendisine ait lizozomlar diğer organeller gibi bozulmamıştır. Her ne kadar apoptotik cisimler hızla fagosite edilse de bazıları özellikle de süspansiyon kültürleri, tümör asitleri gibi sıvılarda da kalımlı olanlar fagositozdan kaçabilir. Bunlar kendiliğinden imme ve membran rüptürüyle dejenerasyona giderler. Buna "sekonder nekroz" denir ve morfolojik olarak nekrozla aynıdır (61).

3.7.2. Apoptotik Süreç

Programlı hücre ölümünde birbirini izleyen basamakların neler olduğu tam olarak bilinmemektedir. Hücrenin kendi otomatik saati olan genlerin aktivasyonu veya çevreden gelen sinyallerle apoptozis başlamaktadır. Apoptozis önceden hazır olan hücrelerde primer başlatılabilir ya da bir uyarı sonucu sekonder olarak gelişir (46).

Hücre ölümü veya yaşamının sürdürülmesi ile ilgili olaylar, protein kinaz C, büyüme faktör reseptörleri ve G proteinler tarafından sağlanan sinyal yollarını içerirler (62). Bazı hücre içi olaylarda olduğu gibi apoptozisde gelişen olaylarda benzer sinyal yollarını kullanmaktadırlar. Bu olaylar serisi, hücrenin proliferatif homeostazisinde denge oluşturulması için gereklidir. Plazma membranının sitoplazmik yüzeyinde lokalize olan G proteinleri transmembran sinyal sistemlerinde önemli rol oynarlar, adenilat siklazın stimülasyonu veya inhibisyonu ile hormonal sinyal iletimini sağlarlar (51).

Apoptozis çok çe itli iç ve dı uyarı ile tetiklenebilmektedir. Toksinler, iyonize radyasyon, reaktif oksijen radikalleri, çe itli kimyasallar, kemoterapik ajanlar, ısı oku, ya lanma veya iskemi sonucu geli en subletal hasarlar ve DNA hasarlanmaları hücredeki apoptotik süreci aktive edebilir. Ölüm reseptörlerinin uyarılması apoptozisi indükleyen en önemli yollardan birisidir. Büyüme faktörle ri azlı nda, hormon ve sitokinlerin sinyalleri olmadı nda hücreler apoptozise giderler. Sonuç olarak çekirdekte, hücre membranında, mitokondriyumda veya hücre içi herhangi bir bölgeden gelebilecek bir uyarı apoptozu ba latabilir (63).

DNA hasarı, hücre siklusu kontrolü ve apoptozis arasında bir ili ki oldu u saptanmı tır (64). Hücrede bir ekilde irradasyon ve kemoterapik ilaçlar nedeniyle DNA hasarı olu tu unda p53 proteini fonksiyonel duruma geçer (65,66). E er hasar onarılabilecek düzeyde ise hücre siklusunu durdurur ve hücreye DNA' sını tamir edebilmesi için zaman kazandırır. Hasar tamir edilemeyecek düzeyde ise bu durumda apoptozisi indükler (63). Apoptozisi ekstrinsik ve intrinstik olmak üzere iki yol ba latır.

Tablo 1: Ölüm Reseptörleri ve Ligandları

Reseptör	Ligand
Fas (Apo-1 CD95)	FasL
TNFR-1	TNF-
DR-3 (TRAMP,Apo-3,Wsl-1)	Apo-3L
DR-4 (TRAIL-R1)	TRAIL
DR-5 (TRAIL-R2)	TRAIL

3.7.2.1. Ekstrinsik Yol

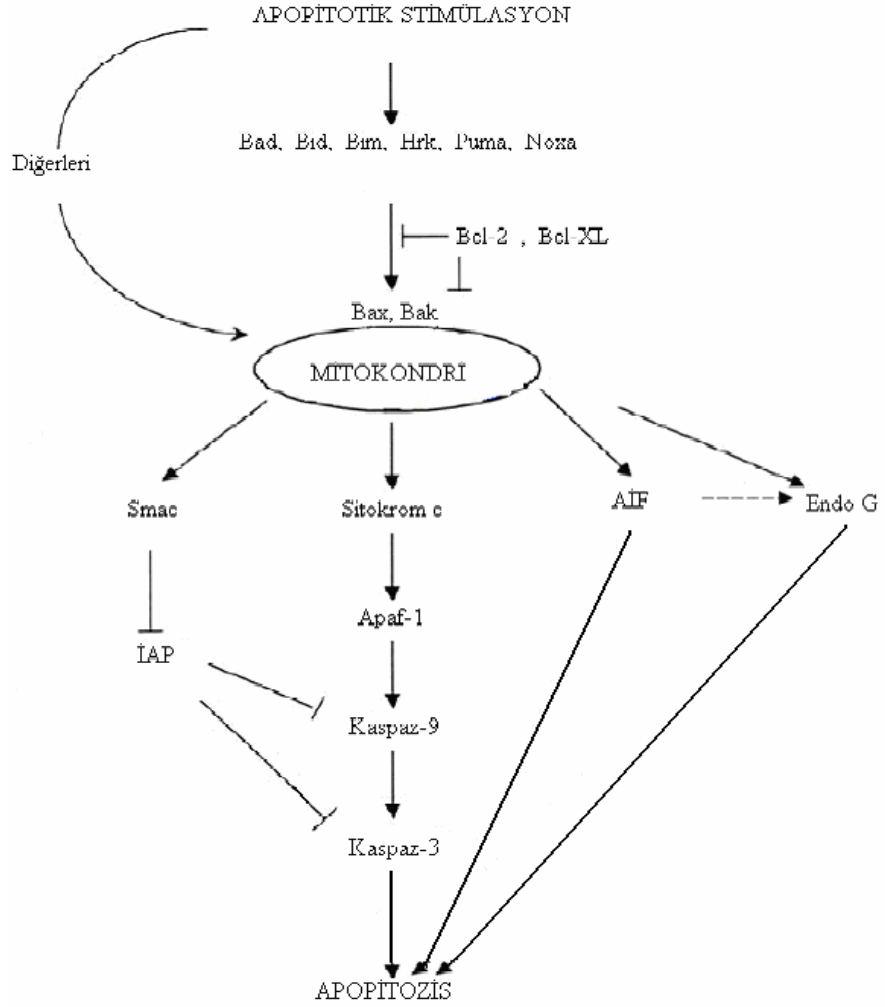
Apoptozisi ba latan önemli yollardan birisi de ekstrinsik yol olup bu yolda ekstrasellüler ölüm sinyal proteinleri ve bu proteinlerin ba landı ı hücrenin yüzey reseptörü görev alır (67,68). Sinyal proteinleri ve reseptörler ölüm bölgeleri "death domain (DD)" olu turur (62-64). Bu ölüm bölgeleri proteazları aktive tirer ek apoptozisi ba latırlar. Ekstrensik yolda be ölüm reseptörünün DNA sıralanı ları bilinmektedir (Tablo 1) (69,70,71).

Ölüm reseptörleri, yaklaşık 80 aminoasit kalıntısını ihtiva eder ve sisteinden zengin ekstraselüler alt bölgeler içermeleri nedeniyle kendilerine özgü ligandların tanınmasına izin verirler (72,71,73).

3.7.2.2. İntrinsik Yol (Mitokondriyal Yol)

İntrinsik yol aktivasyonu için kaspaz sinyal kaskadı aktivasyonu gerekmektedir. Bu aktivasyon bcl-2 ailesi üyesi olan *bid* ile sağlanır. Bid kaspaz 8'in bölünmesiyle ortaya çıkar ve mitokondride sitozolden sitokrom c ve di er mitokondriyal proapoptotik faktörlerin salınmasını indükler ve proapoptotik bcl-2 aile üyelerinden *bax* ve *bak* ile uyumlu rol oynayarak mitokondriyal yolu başlatarak kaspaz 9'u aktive eder. Kaspaz 9'un aktive olması kesin hücre ölümüyle sonuçlanan kaspaz 3, 6 ve 7 gibi efektör kaspazların katılımıyla kaspaz kaskadının başlamasına neden olur (74,75). Böylece iç mitokondri transmembran potansiyelinin bozulmasına bağlı olarak membran permeabilitesi artıyla osmotik mitokondriyal şişme ile eş zamanlı olarak dış mitokondriyal membranın parçalanması sonucunda mitokondriyal membran arasından proapoptotik proteinlerin sitoplamaya salınmasına neden olur ve hücre ölümü gerçekleşir (76,77).

Mitokondriyal yol ayrıca kemoterapötik ilaçlar tarafından indüklenen DNA hasarı, oksidatif stres, açlık gibi hücre içinden orjin alan ölüm sinyallerinin çoğaltılması ve tamamlanmasında rol oynar (78,79).



ekil 4. Mitokondriyal Yol

3.7.3. Proapoptotikler

Kaspazlar bilinen en iyi proapoptotik olup bir sistein proteazdır. Apoptotik hücrede ilmi olan vakaların çoğunda aktive olup apoptotik sinyal için büyük bir öneme sahiptir ve hücre ölümünün kaspaz aktivitesine bağlı olarak geliştiği bildirilmiştir (80,81).

Kaspaz terimi sistein bağımlı aspartat spesifik proteazlardan (cystein-depentent aspartate-proteases) türetilmiştir. Kaspazların katalitik aktivitesi yüksek derecede korunmuş aktif bölüm olan pentapeptit içindeki sistein miktarına bağlıdır. İndiyeye kadar memelilerde 14 üyeli kaspaz ailesi bulunurken bunlardan kaspaz 11 ve 12

sadece farelerde tanımlanmıştır (82,83). Yapılan hayvan deneylerinde kaspaz 3 ve 9 geninin çıkarıldığı deneylerde beyin gelişiminde ağır defekt sonucu perinatal mortalite geliştiği, kaspaz 8 yetmezlikli embriyonun ise 12 gün sonra öldüğü bildirilmiştir. Kaspaz 1 veya 11 defektli sıçanlarda yapılan çalışmalarda da hücrelerin ölüm sinyaline karşı duyarlı oldukları saptanmıştır (84-88).

Bax bilinen diğer önemli proapoptotik olup antiapoptotik olarak bilinen bcl-2'nin bir alt grubudur. Apoptozis sırasında diğer iktliklere uyan canlı hücrelerde sitozolik monomerdir ve diğer mitokondriyal membrana entegre olarak oligomerlerine ayrılır (89). Bax'ın apoptotik süreçte mekanizması tam bilinmemesine rağmen bak oligomerleriyle beraber diğer mitokondriyal membranda geçirgenliği uyardığı ve katkıda bulduklarına inanılır. Bu ya kendileri tarafından kanalların oluşturulması ya da voltaj bağımlı anyon kanalı gibi diğer mitokondriyal membran porlarının etkilenmesi ile olur (90).

3.7.4. Antiapoptotikler

Bcl-2 hücre ölümünü inhibe eden onkojenlerin ilk örneğidir. foliküller lenfomaya neden olan bir onkojendir. Sıklıkla immünglobulinin kromozom translokasyon [t(14:18)] bölgesiyle bağlantılıdır. Özellikle hücrenin apoptozisten korunmasında önemli rol oynar (91). Memelilerde bir kısmı antiapoptotik diğer kısmı da proapoptotik özelliklere ait 30 kadar benzerleri tanımlanmıştır (Tablo 2) (92).

Tablo 2: Bcl-2 Ailesi

Antiapoptotik	Proapoptotik
Bcl-2	Bax Bmf
Bcl-X _L	Bak Hrk
Bcl-w	Bok Noxa
Bcl-B	Bid Puma
Boo	Bim Spike
A1	Bik BNIP3
Mcl-1	Bad Bcl-Xs
	Blk

Bcl-2'ye ek olarak *bcl-X_L*, *bcl-w*, *bcl-B*, *boo*, *Al* ve *Mcl-1* gibi alt gruplar mevcut olup bunlar antiapoptotik proteinler olarak adlandırılırlar. Antiapoptotik olarak bilinen bcl-2'nin mevcut iki alt grubu proapoptotik özelliklere sahiptir. Bax alt ailesi (*bax*, *bak* ve *bok*) ve *Bid* alt ailesi (*Bim*, *Bik*, *Bad*, *Bmf*, *Hrk*, *Noxa*, *Puma*, *Blk*, *BNIP3* ve *Spike*) (93).

Bcl-2 ailesinin apoptozisi nasıl kontrol etti i hakkında tartışmalar vardır. Bir model, bcl-2 üyelerinin direkt olarak kaspaz aktivitesini kontrol edebileceğini, di er model mitokondri bütünlü ünün korunması ile etkili olabileceklerini savunmaktadır (94,95). Bcl-2 aile üyelerinin esas fonksiyonu, mitokondri bütünlü ünü korumak ve sitoplazmaya mitokondriyal proteinlerin salınımını kontrol etmektir (96). Bcl-2'nin mitokondri bütünlü ünü korunması proapoptotik bax ve bak genleriyle ilişkilidir. Sadece bax geninin inaktivasyonu apoptozisi sadece biraz etkilerken, yalnız bak geninin bozulması hiç bir etki göstermemiştir. Buna karşın bax ve bak genlerinin birlikte salınması hemopoetik sistem ve beyinde apoptozis gelişimi sırasında dramatik bozulmaya neden olur (97).

Antiapoptotik bcl-2 üyeleri bax ve bak aktivasyonu ve oligomerizasyonunu önleyerek mitokondriyal proapoptotik olayları inhibe eder. Bu olaylar bcl-2 ve bcl-X_L fazla salınımı birçok sitotoksik etkilere cevap olarak apoptozisi inhibe etti i gösterilmiştir (98).

3.8. Damar Duvarında Apoptozis

Damar duvarının normal gelişimi ve fibroproliferatif hastalıkları sırasında meydana gelen kan damarlarının yeniden yapılanmasında, vasküler hücrelerin apoptozis göze çarpar. Kan damarı duvarının hücresel kompozisyonunun ve morfolojisinin kontrolünde vasküler hücre apoptozisinin rolü olduğu ileri sürülmüştür (99). Hücre proliferasyonu, migrasyonu ve matriks turnover'i ile birlikte apoptotik hücre ölümü normal damar ve hastalık gelişimindeki yapısal değişikliklere katkıda bulunabilir. Bunun yanında damar duvarındaki hücre ölümü, spesifik sitokinler ve gen ürünlerinin her ikisiyle de ayarlanabilir (100).

Damarların yeniden yapılanması sırasında fizyolojik ve patolojik durumların her ikisinde de apoptozis ile hücre proliferasyonu ayrılmaz ikilidirler. Ancak apoptozisi ve Apoptoziste post-op safen ven greftin erken döneminde düz kas hücreleri fibröz dokuyla tamamen yer değiştirebilir. Bu değişim geç dönem safen ven dejenerasyonu önemli rol oynar. Düz kas hücreleri bununla beraber anevrizma

formasyonundaki vasküler atrofi a ır ı apopitozis ile birlikte bulunur. Damar duvarındaki vasküler düz kas hücreleri ya amın ba ından sonuna kadar bölünebilirler ve apopitozise maruz kalabilirler (101). Bu nedenle damar duvarı içinde normalden az veya fazla olu an apopitozis zararlı olabilir (102).

3.8.1. Vasküler Remodeling ve Apoptozisin Etkisi

Doku kitlesi veya toplam hücre sayısında büyük de i ikli e ihtiyaç duymadan damar boyutundaki de i im, ba tan sona damar duvarında olu an apoptotik süreç ile ilgilidir. Bu durum damar duvar yeniden yapılanması olarak tanımlanır. Örne in proliferasyon veya apopitozis sonucu ile olu an fizyolojik yeniden yapılanmada; do um sonrası umbilikal kordun arter ve venin lümen de daralma ve duktus arteriozusda kapanma meydana gelir (103). Neonatal vasküler yeniden yapılanma sırasında olu an vasküler hücre apopitozisi, plasentadan akci erlere oksijen de i toku u sırasında meydana gelen akım azalması ile tetiklenerek ortaya çıktı ı bildirilmi tir (99).

Damar duvarı yeniden yapılanması immatür tav anların karotis arterlerindeki akım de i iklikleriyle direkt olarak gösterilmi tir. Bu deneysel çalı mada sol eksternal karotisin ba lanması sonucunda common karotis arterdeki kan akımındaki azalma ve bu azalmayla korele olarak endotelial hücre ve vasküler düz kas hücre apopitozisinde artı dikkati çekmi tir (104).

Vasküler düz kas hücrelerinde yeniden yapılanma primer aterosklerozda, anjiyoplasti sonrasında, restenozda, vasküler travmada ve mekanik distansiyonda meydana gelebilir. Her ne kadar bu durumların tümünde üphesiz apopitozis meydana gelse de sonuç olarak yeniden yapılanmada vasküler düz kas hücre apopitozisin rolü önemlidir (102).

Safen ven greftindeki düz kas hücreleri apoptozisin etkisiyle erken dönemde fibröz dokuyla yer de i tirebilir. Bu kar ılıklı de i im geç dönemde ise safen ven greftin dejenerasyonunda önemli rol oynar (105). Ven greftin erken dönem hasarlanmasındaki apoptotik süreçte, medial düz kas hücrelerinde önemli hasar olu ur. Bu hasarın temelinde ven greftin mediasında bulunan düz kas hücreleri, fibroblastlar ve inflamatuvar hücreler önemli rol oynar (106). Mekanik distansiyon, inflamasyon ve medial iskemi nin fibrozise neden oldu u ve bu medial düz kas hücre yapılanmasının programlanmı hücre ölümü (apoptozis) ile birlikte oldu u tespit edilmi tir (105).

Karabulut ve arkadaşları (107) insan safen ven greftinin koroner bypass için hazırlanması sırasında, farklı basınçlar kullanımı, 100 mmHg üzerindeki basınç uygulamalarda önemli derecede endotel hasarını oluşturdu, 100 mmHg altındaki uygulamalarda daha az endotel hasarı olduğu tespit edilmiştir. Ancak yapılan çalışmalarda ven greftlerinde mekanik distansiyon olmadan da ciddi düz kas hücre kaybı olabileceği gösterilmiştir (106).

Vasküler düz kas hücresindeki apoptozisinin etkisi ortamın şartlarına bağlıdır. Bu nedenle ilerlemiş aterosklerotik plaktaki intimal vasküler düz kas hücre apoptozisi plak rüptürünün gelişmesine ve mediyal apoptozis de anevrizma formasyonunun gelişmesine yardımcı olabilir. Hasar sonrası neointima oluşumu intima ve medyanın her ikisindeki düz kas hücre apoptozisi ile sınırlandırılabilir (108).

İnsandaki anevrizmanın en yaygın ekli damar medyasından vasküler düz kas hücre kaybı ile elastin parçalanması ve matriks bozulmasıyla karakterize, ilerleyici dilatasyon gösteren ve bunun sonunda rüptüre olan anevrizmalardır. Vasküler düz kas hücresindeki apoptozis aortik anevrizmalarda normal aortalara kıyasla artmıştır. Bu artışla ilgili olarak proapoptotik moleküllerin sayısında da artış mevcuttur (109).

Hücresinin yaşamaya yeteneği moleküler düzeyde proapoptotik ve antiapoptotik sinyaller arasındaki denge ile yönetilir. Bu olay bir takım gen familyaları aracılığıyla olur ki bunlardan en önemlisi bcl-2 familyasıdır. Bcl-2 familyası üyelerinden bcl-2, ve bcl-x' in uzun formu olan bcl-X_L hücrelerin hayatta kalmalarını sağlamak için bax, bad, ve bid fonksiyonu apoptozisi iletir. Yapılan birçok çalışmada vasküler hücre yaşamaya yeteneğinin kontrolü üzerinde bcl-2 familyası proteinlerinin rolü incelenmiştir (99). İnsan aterosklerotik plakların vasküler düz kas hücrelerinde Bax ekspresyonunun artışıyla aterosklerotik plaklarda apoptozisin yüksek frekansda olduğu gösterilmiştir (110). Ayrıca yeniden andaki vasküler yeniden yapılanma ve vasküler regresyon da vasküler düz kas hücrelerindeki bax ekspresyonunun artışıyla ilişkilidir (111). Koruyucu protein bcl-X_L, normal vasküler düz kas hücreleri medyasında bolca bulunurken, balon hasarı sonrası apoptotik hücre ölümünün balonlardaki dalgalanma ile korele olarak ekspresyonu azalır (112). Tav anlarda yapılan anjiyoplasti aracılıklı apoptozisde, bcl-X_L ekspresyonu, vasküler düz kas hücrelerinin intimasında medyasından daha fazla artış olarak bulunur (108).

Vasküler düz kas hücresinin hayatta kalma mücadelesinde bcl-2 familyası proteinlerinin fonksiyonel farklılıkları yapılan deneylerde gösterilmiştir. Tıkanmış venöz damarlarda karıt strateji kullanılarak bcl-X_L'in ablasyonunun neointimal vasküler düz kas hücre apoptozisine neden olabileceği ve bunun da intimal kalınlıkta azalmaya yol açacağı gösterilmiştir (108). Böylece bcl-X_L ekspresyonu neointimal vasküler düz kas hücrelerinde tercih edilen protein olduğu kanısına varılmıştır. Tüm bu çalışmalar, vasküler düz kas hücrelerinin hayatta kalma mücadelesinde endojen bcl-2 ve bcl-X_L seviyelerinin gerekli olduğunu göstermiştir.

Bcl-2 familyası proteinlerine ek olarak vasküler hücre apoptozisinin regülasyonunda faktör p53 transkripsiyonu önemsizdir. Böylece yapılan çalışmalarda aterosklerotik lezyonlarda p53 birikimi apoptozisi ilerlettiği rapor edilmiştir (113).

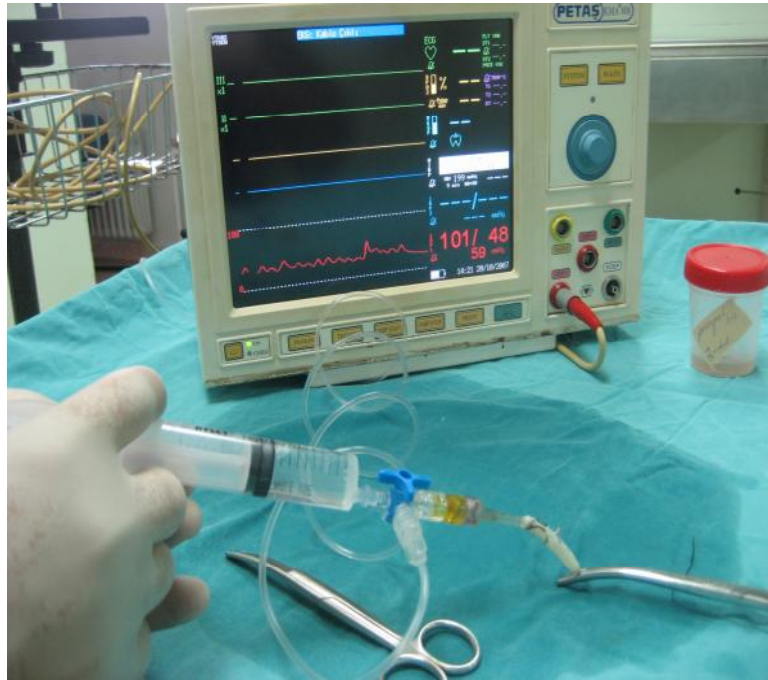
Sonuç olarak (99);

-Vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerin apoptozisi insan damarlarının gelişimi sırasında belgelendirilmiştir.

-Akut hasar sonrası intimal lezyonlardaki vasküler düz kas hücrelerinin turnover'ından apoptozisin sorumlu olabileceği ve medyada meydana gelen hücre azalmaya apoptotik vasküler düz kas hücre ölümünün katkıda bulunabileceği gösterilmiştir.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalı mamız, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi A.D. ve Patoloji A.D. tarafından gerçekleştirildi. Çalı maya her iki cinsten, koroner arter bypass greft operasyonu geçirecek varis ve venöz yetmezlik tanısı almamı sa lıklı vena safena magna (VSM)'ya sahip 32 hasta dahil edildi ve her grupta 8 hasta yer aldı. Operasyonda elde edilen VSM greftlerinden arta kalan 5 cm lik safen ven parçaları kanüle edildi, kanülün ucuna üçlü musluk takıldı. 20 cc'lik enjektör her grup için ayrı hazırlanan solüsyon ile doldurularak üçlü muslu a takıldı. Ortalama 100 mmHg basınç ile i rilerek olu an basınç üçlü musluktaki transdüser a racılı ıyla monitöre kaydedildi (ekil 5).



ekil 5. Safen venin distansiyon basıncının monitörizasyonu

Yapılacak çalı ma tüm hastalara anlatılarak onay belgesi alındı. Çalı maya dahil edilen hastalarda ya ve cinsiyet ayrımı yapılmadı.

4.1. Gruplar

Grup 1 (Kontrol grubu): Safen veni heparinli serum fizyolojik solüsyonu (300 cc %0.9 NaCl içine 5000 Ü heparin konularak hazırlanan solüsyon) ile 100 mmHg basınçla 2 dakika süre ile i irilecek, ardından bir saat bekletilecek.

Grup 2 (Papaverin grubu): Safen veni papaverin solüsyonu içine (300 cc %0.9 NaCl heparinli serum fizyolojik solüsyonu içine 20 mg papaverin (Papaverin amp 40mg/2ml konularak hazırlanan solüsyon) ile100 mmHg basınçla 2 dakika süre ile i irilecek, ardından bir saat bekletilecek

Grup 3 (Verapamil grubu): Safen veni Verapamil solüsyonu (300 cc %0.9 NaCl heparinli serum fizyolojik içine 5 mg verapamil (soptin amp 5mg/2ml) konularak hazırlanan solüsyon) ile 100 mg basınçla 2 dakika süre ile i irilecek, ardından bir saat bekletilecek.

Grup 4 (Nitrogliserin grubu): Safen veni nitrogliserin solüsyonu (300 cc %0.9 NaCl heparinli serum fizyolojik solüsyonu içine 2.5 mg nitrogliserin (Perlinganit amp 10mg/10ml) konularak hazırlanan solüsyon) ile100 mmHg basınçla 2 dakika süre ile i irilecek, ardından aynı solüsyon içinde bekletilecek.

4.2. Damar Örneklerinin Alınması Ve Hazırlanması

Her dört grubun vena safena magnasından yaklaşık 2cm doku örneği alındı. Alınan doku örnekleri %10'luk formolde tespit edildikten sonra parafin bloklara gömüldü.

4.3. Histomorfolojik nceleme

Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom ile 4µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler deparafinize edilerek cam slaytlara monte edilip hematoksilin-eozin, Verhoeff'un Elastik boyası ve Masson Trichrome kollajen boyası ile boyandı. İlk mikroskopisinde ven duvar katmanlarının yapısal düzeni ve hücre dizilimleriyle birlikte kollajen ve elastin içerikteki patolojik değişiklikler değerlendirildi.

4.4. immunohistokimyasal inceleme

Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4µm kalınlı ındaki kesitlere avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immunohistokimyasal olarak bax, bcl -2 ve kaspaz-9 uygulandı. Elde edilen 4 mikron kalınlı ındaki kesitler bax, bcl -2 için deparafinize ve rehidrate edildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini ölçmek için 5 dk. %3 hidrojen peroksitte tutuldu. Daha sonra distile su ile yıkanıp pH 6'da 650 mw (mikrodalga)'da Sitrat buffer'da 5 dakika bekletildi. Kesitlere 10 dk Ultra V blok uygulandı. Kaspaz-9 için deparafinize ve rehidrate edildikten sonra 10 dakika pepsin enzimi uygulandı ve distile su ile yıkanıp 5 dk. %3 hidrojen peroksitte tutuldu. Daha sonra benmaride 37°C nemli ortamda 30 dk süreyle mouse monoclonal antibody Bax (Neomakers, Fremont, CA, USA), mouse monoclonal antibody Bcl -2 (Neomakers, Fremont,CA,USA), rabbit polyclonal antibody Kaspaz-9 (Neomakers, Fremont,CA,USA) antikorları uygulandı. Ardından 0.001 M, pH 7.4 olan PBS ile yıkanarak avidin- biotin peroksidaz ile inkübe edildi. AEC kromojen ile boyandı. Bütün kesitlere Mayer Hematoksileni ile zıt boyama yapıldı v e özel kapatma maddesi (Ultra Mount Medium) ile kapatıldı.

mmunohistokimyasal inceleme Enrico Ascher ve arkadaşlarının (132) yöntemine göre yapıldı. I ık mikroskopisinde (Olympus model U-MDOB, Japan) × 400 büyütmede her kesitten rastgele 10 saha incelendi. Her sahadaki 100 hücre bax (+), bcl-2 (+) ve kaspaz-9 (+) ile boyanarak sayıldı. Toplam boyanan hücrelerin ortalama yüzdeleri alındı.

4.5. statiksel Analiz:

statistiksel de erlendirmeler için Statistical Programme Software System (SPSS) 15.0 programı kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama ± standart deviasyon olarak gösterildi. Gruplar arası farkın de erlendirilmesinde, “tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA)” ve Post Hoc test olarakta “Tukey HSD (honestly significant difference) test” kullanıldı. $p < 0.05$ olan de erler anlamlı olarak kabul edildi.

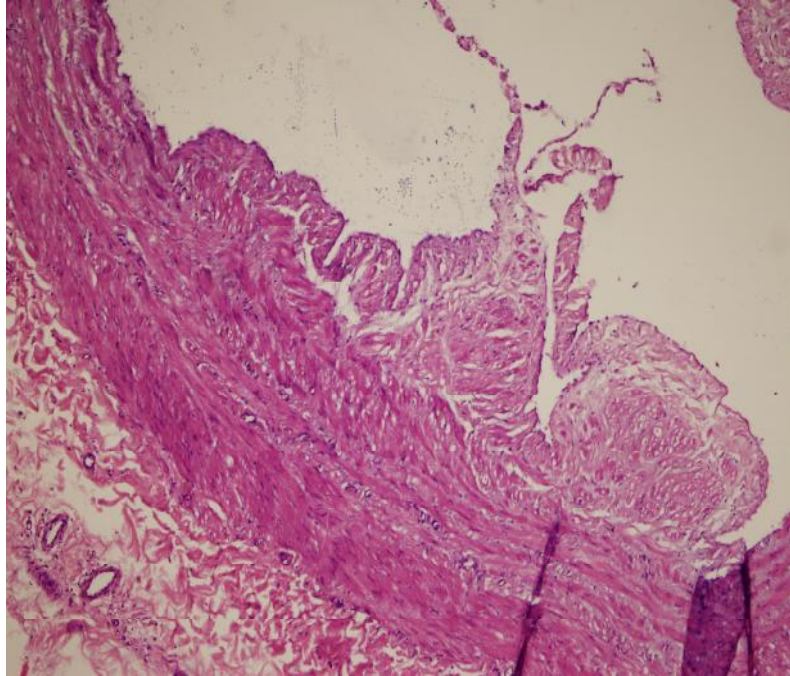
5. BULGULAR

5.1. Histomorfolojik Veriler :

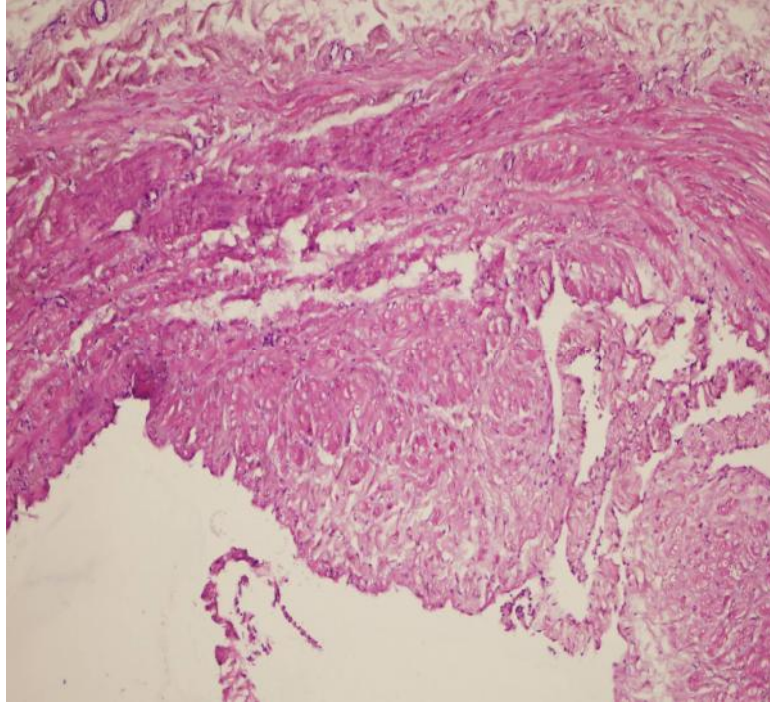
İlk mikroskop incelemelerinde kontrol ve papaverin solüsyonlar ile hazırlanan safen vende birbirine benzer sonuçlar elde edildi. Mikroskopik incelemede endotel düzensizliği, yer yer endotel kopmaları ya da hücreler ve intimada hiperplazik alanlar gözlemlendi (ekil 6A,6B).

Verapamil ve nitrogliserin solüsyonlarıyla hazırlanan safen vende ise yine birbirine çok yakın sonuçlar elde edildi. Tunika intima, tunika media ve adventisya olarak izlendiği, minimal düzeyde endotel hücrelerinde kayıp olduğu görüldü (ekil 6C ,6D).

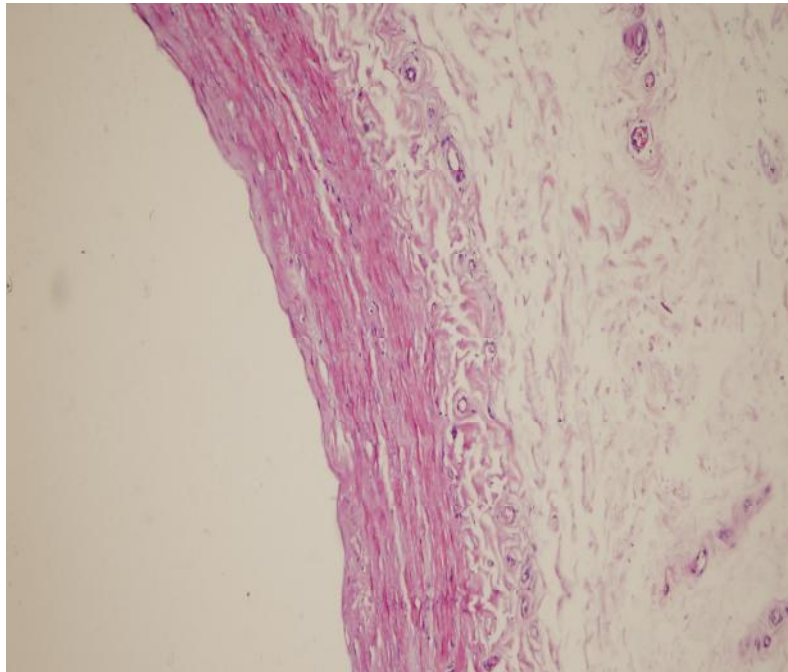
Sonuç olarak verapamil ve nitrogliserin solüsyonlar ile hazırlanan safen vende vasküler yapının minimal hasarda olduğu korunduğu ancak kontrol ve papaverin solüsyonlar ile hazırlanan safen vende ise tüm tabakalarda yapısal bozukluklar olduğu ve aterosklerotik zemine dönüşümünün hızla olduğu gözlemlendi.



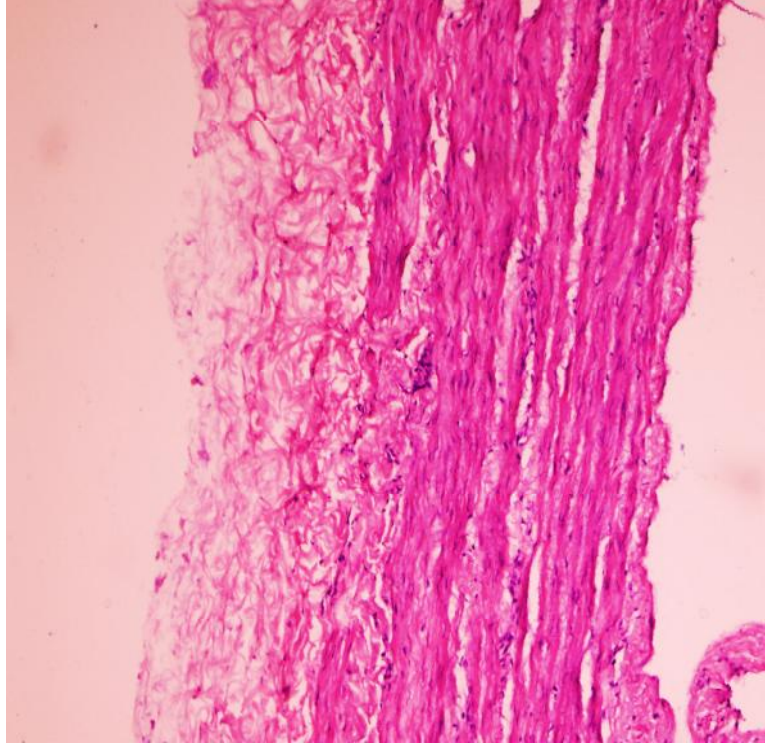
ekil 6A. Kontrol grubunda yeralan ve heparinli serum fizyolojikle işirilmiş safen ven



ekil 6B. Papaverin grubunda yeralan ve heparinli serum fizyolojikle i irilmi safen ven



ekil 6C. Nitrogliserin grubunda yeralan ve heparinli serum fizyolojikle i irilmi safen ven



ekil 6D.Verapamil grubunda yeralan ve hepa rinli serum fizyolojikle i irilmi safen ven

5.2. mmunohistokimyasal Veriler:

Alınan kesitler bax, bcl-2 ve kaspaz-9 içerikleri yönünden immunohistokimyasal olarak boyandılar ve de erlendirildiler.

Tablo 3. Safen ven gruplarında sayılan hücrelerin yüzde oranları

Gruplar	Bax	Kaspaz	Bcl
Kontrol (I)	85,00 ± 6,89	24,50 ± 6,85	2,50 ± 1,41
Papaverin (II)	64,63 ± 8,73	26,25 ± 6,54	2,75 ± 1,28
Verapamil (III)	23,75 ± 4,20	18,63 ± 4,78	7,25 ± 1,83
Nitrogliserin (IV)	22,00 ± 7,69	19,38 ± 4,96	8,88 ± 2,30
<i>P = (I-II)</i>	0,000	0,932 (AD)	0,992 (AD)
<i>P = (I-III)</i>	0,000	0,209 (AD)	0,000
<i>P = (I-IV)</i>	0,000	0,317 (AD)	0,000
<i>P = (II-III)</i>	0,000	0,066 (AD)	0,000
<i>P = (II-IV)</i>	0,000	0,111 (AD)	0,000
<i>P = (III-IV)</i>	0,960 (AD)	0,994 (AD)	0,270 (AD)

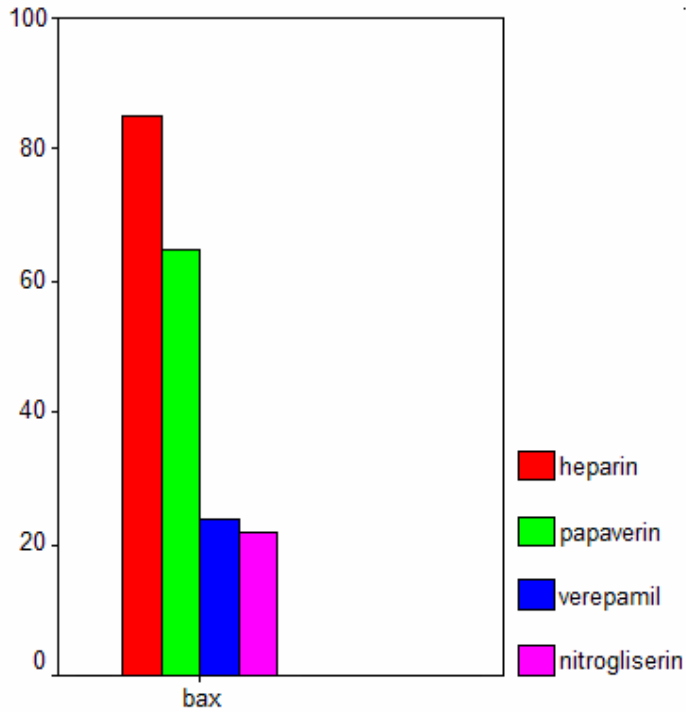
Veriler Ortalama ± Standart sapma olarak verilmi tir.

AD: Anlamli De il.

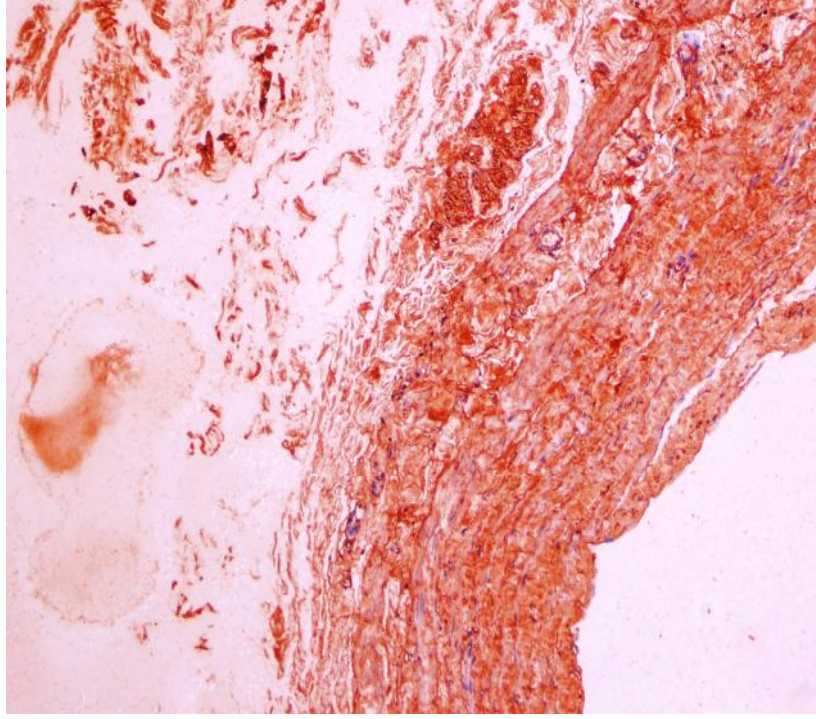
5.2.1 Bax Boyanması:

Gruplardan elde edilen örneklerin bax ile pozitif boyanan hücreler ve ortalama hücre yüzdeleri Tablo 3 ve ekil (7A,7B,7C,7D,7E) de gösterilmiştir. Bax boyanan ortalama hücre, kontrol ve papaverin grubunda anlamlı olarak bulunurken ($p < 0,005$) nitrogliserin ve verapamil grubunda ise çok daha az bulundu (tablo 3). Tüm gruplar birlikte de değerlendirildiğinde kontrol (heparin) grubunda daha fazla olmak üzere papaverin grubunda da fazla görüldüğü ancak nitrogliserin ve verapamil grubunda ise bax (+) boyanan hücrelerin çok daha az olduğu gözlemlendi.

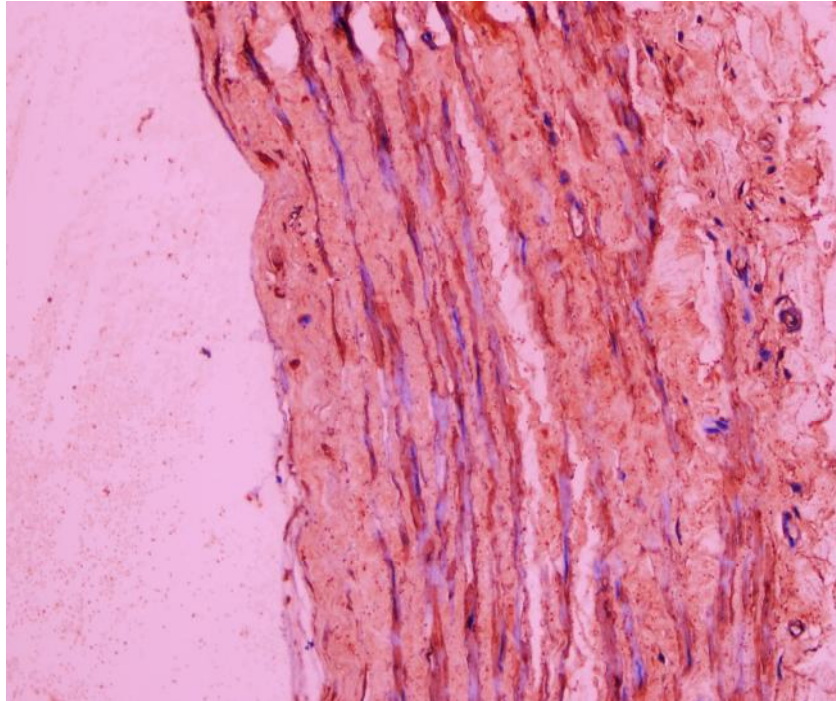
Sonuç olarak kontrol ve papaverin grubu, nitrogliserin ve verapamil grubuna kıyasla çok daha fazla bax pozitif boyanan hücre tespit edildi ve anlamlı bulundu.



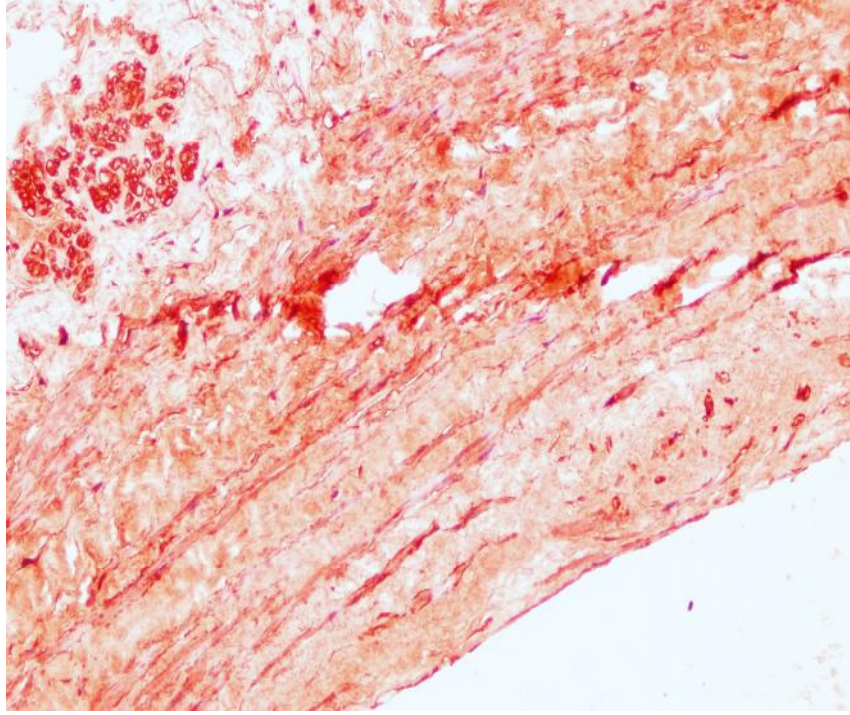
ekil 7A :Bax (+) boyanan ortalama hücre yüzdeleri



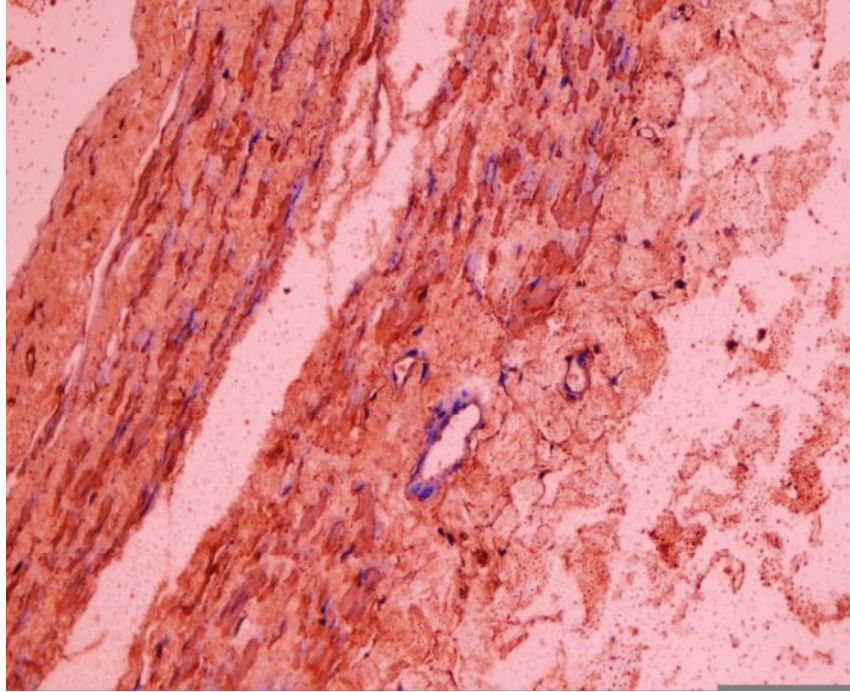
ekil 7B. Kontrol grubuna ait safen vendeki Bax (+) boyanan hücreler



ekil 7C. Papaverin grubuna ait safen vendeki Bax (+) boyanan hücreler



ekil 7D. Verapamil grubuna ait safen vendeki Bax (+) boyanan hücreler

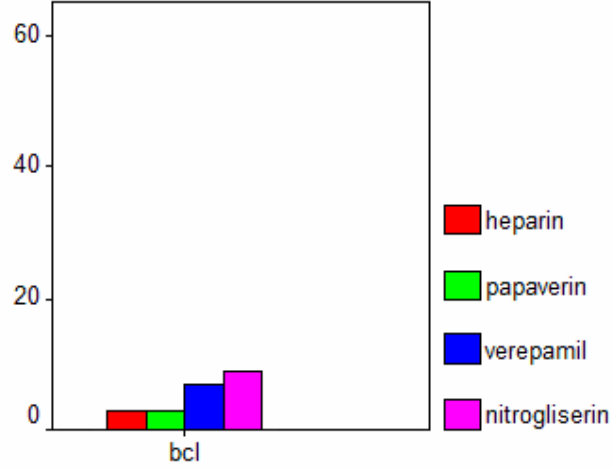


ekil 7E. Nitrogliserin grubuna ait safen vendeki Bax (+) boyanan hücreler

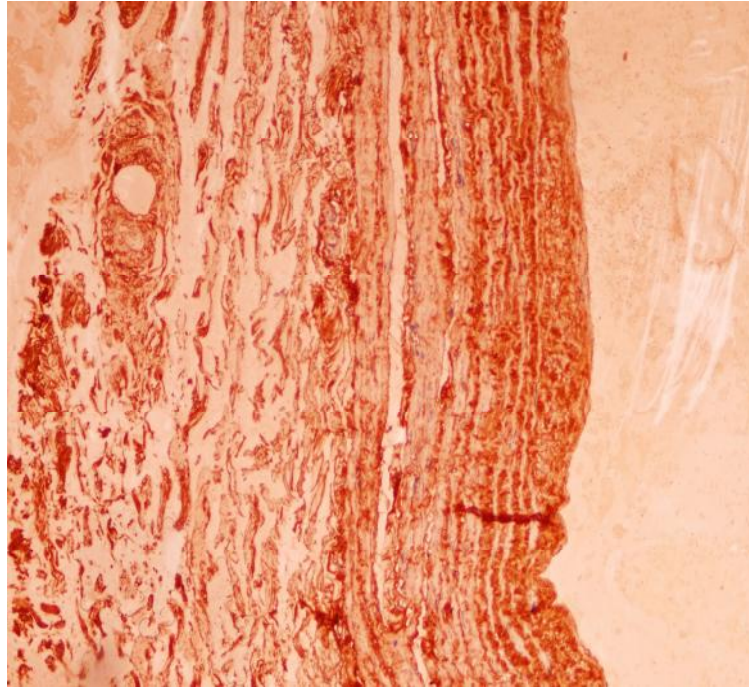
5.2.2. Bcl - 2 Boyanması:

Nitrogliserin ve verapamil gruptaki ven örneklerinde bcl-2 ile boyanan hücrelerin ortamları, kontrol ve papaverin grubuna oranla daha fazla pozitif boyanmış ve anlamlı ($p < 0,005$) bulunmuştur Tablo 3 ve ekil (8A,8B, 8C,6D,9E).

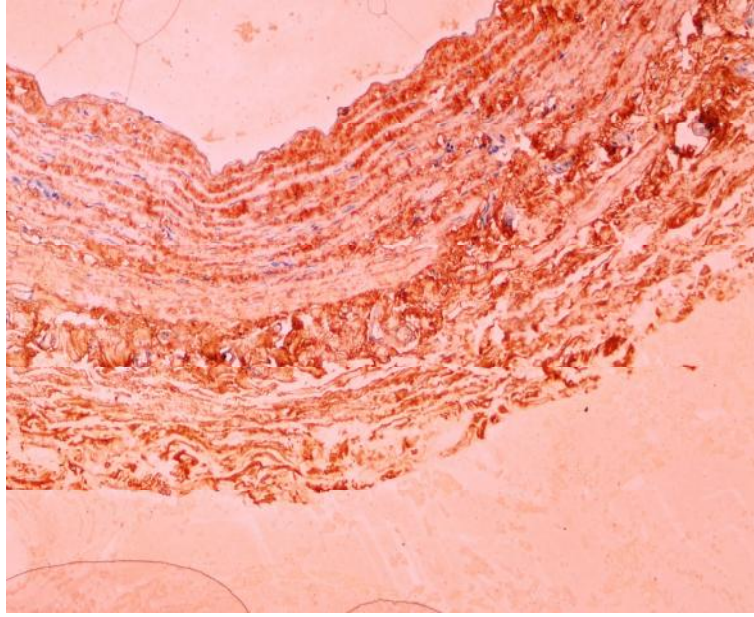
Sonuç olarak yaptığımız çalışmada nitrogliserin ve verapamil grubu kontrol ve papaverin ven grubuna göre sayısal olarak daha fazla bcl-2 (+) bulunmuş ve anlamlı kabul edilmiştir.



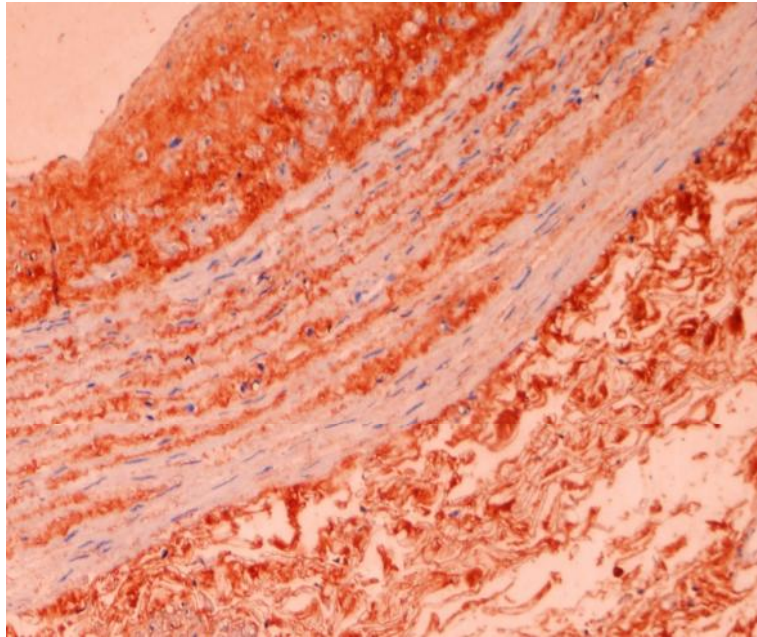
ekil 8A : Bcl (+) boyanan ortalama hücre yüzdesleri



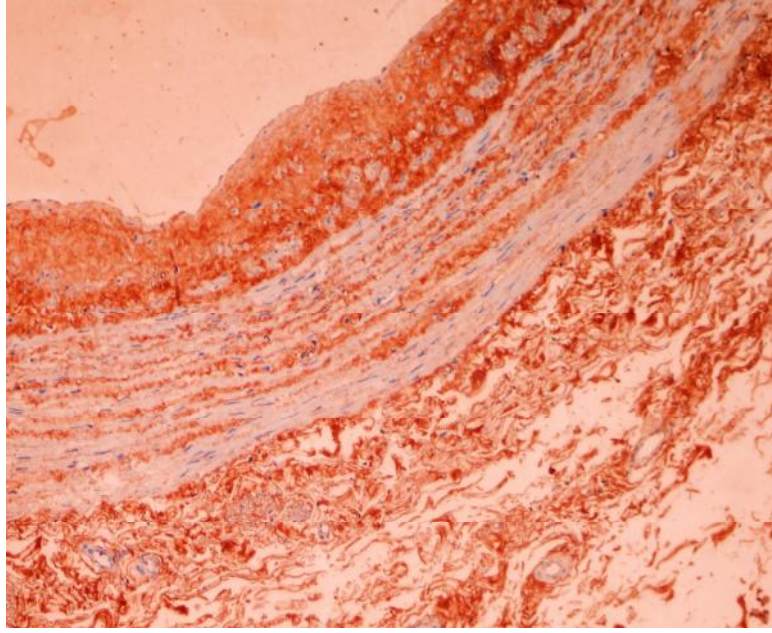
ekil 8B. Kontrol grubuna ait safen vendeki Bcl (+) boyanan hücreler



ekil 8C. Papaverin grubuna ait safen vendeki Bcl (+) boyanan hücreler



ekil 8D. Verapamil grubuna ait safen vendeki Bcl (+) boyanan hücreler

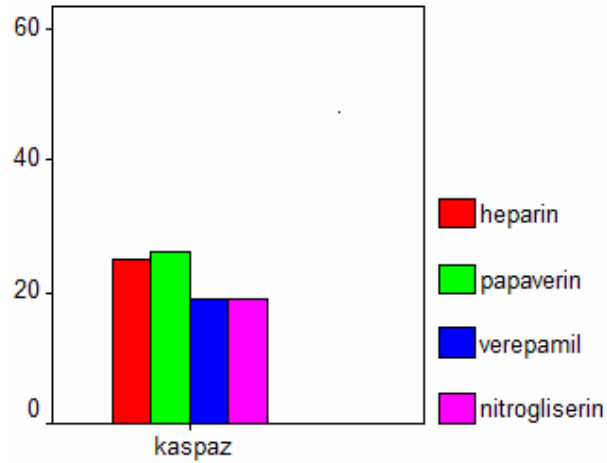


ekil 8E. Nitrogliserin grubuna ait safen vendeki Bcl (+) boyanan hücreler

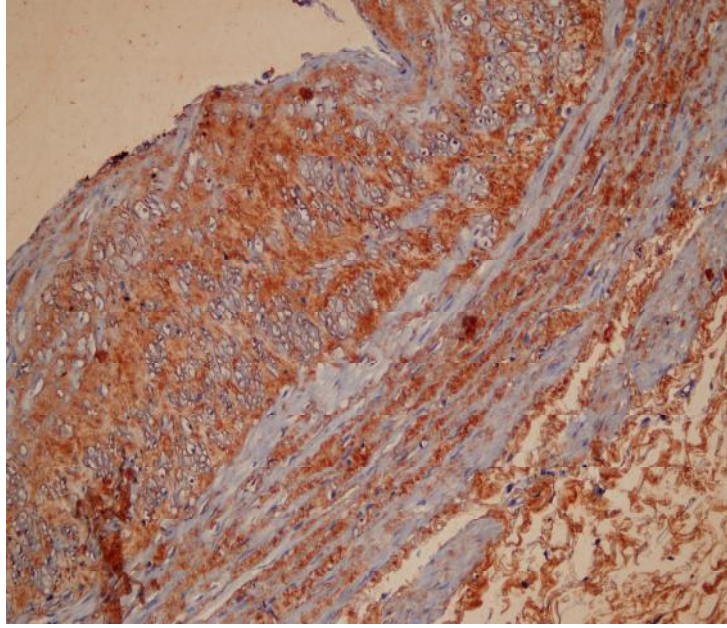
5.2.3. Kaspaz - 9 Boyanması:

Her dört grubun ven örneklerinin incelenmesinde hem kaspaz-9 (+) boyanan hücre sayısı hemde ortalama hücre yüzdelerinin fazla ve birbirine yakın sayısal sonuçlar oldu u görüldü. Tablo 3 ve ekil (9A,9B,9C,9D,9E).

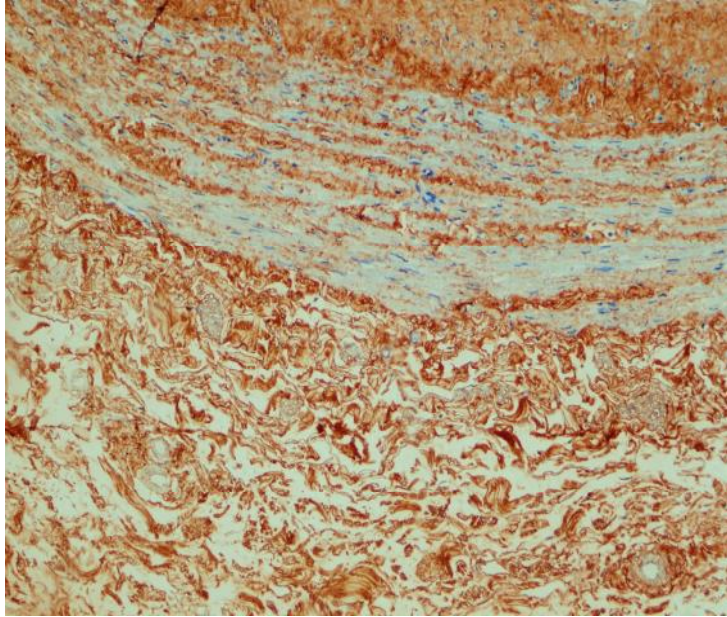
Sonuç olarak yaptığımız çalışmada ise her dört grup arasında kaspaz immünreaktivitesi açısından anlamlı farklılık gösterilemedi.



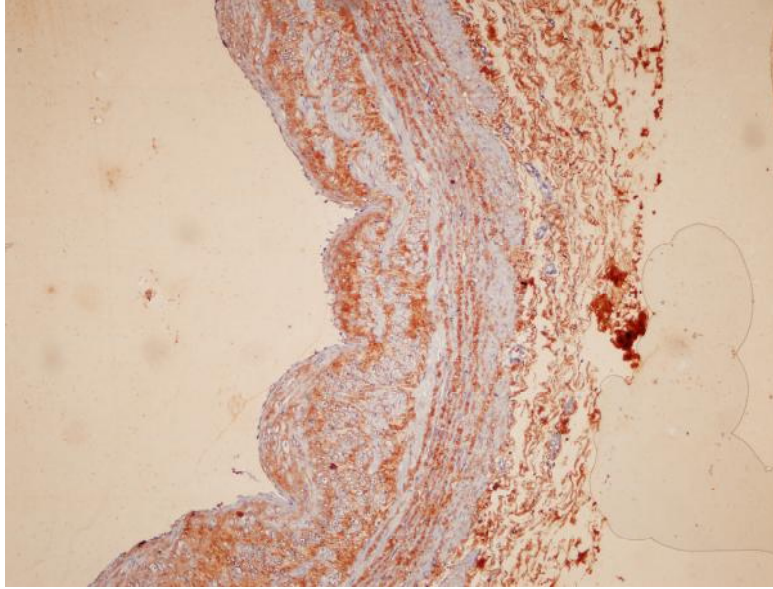
ekil 9A: Kaspaz (+) boyanan ortalama hücre yüzdeleri



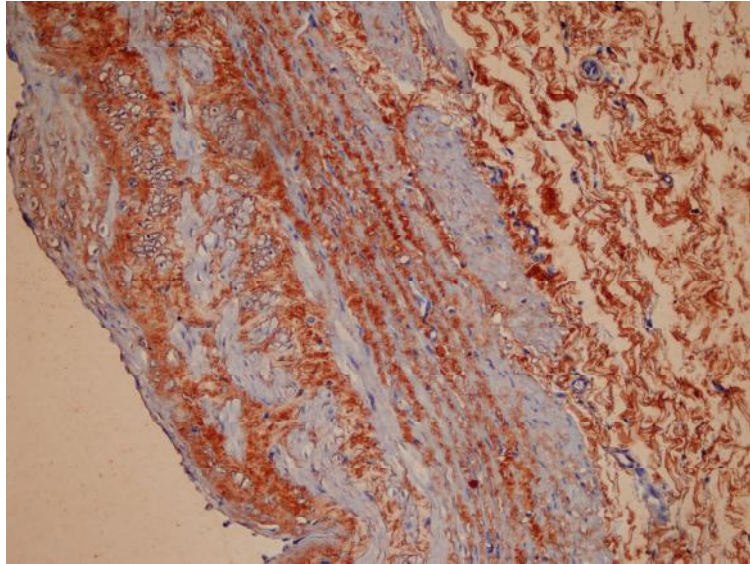
ekil 9B. Kontrol grubuna ait safen vendeki Kaspaz -9(+) boyanan hücreler



ekil 9C. Papaverin grubuna ait safen vendeki Kaspaz -9 (+) boyanan hücreler



ekil 9D. Verapamil grubuna ait safen vendeki Kaspaz -9 (+) boyanan hücreler



ekil 9E. Nitrogliserin grubuna ait safen vendeki Kaspaz -9 (+) boyanan hücreler

6. TARTI MA

Safen ven çapının geni olması, anatomik olarak uzun seyretmesi, spazm olmaması ve çıkarılmasındaki kolaylık nedeniyle koroner bypass cerrahisinde en çok kullanılan greftlerin ba ında gelir. Safen ven ayak bile i seviyesinde medyal malleolun önünde hazırlanıp, kanüle edilerek dü ük bir basınç (<150 mmHg) ile i irilir ve çevreleyen doku venin üzerinde kalmayacak ekilde diseksiyon yapılır. lem sırasında endotel hasarını önlemek için ven sadece adventisyadan atravmatik vasküler bir penset ile tutulur. Yan dallar için mümkün oldu unca klip tercih edilmeyip ven hafif i irilmi halde duvara 1 m m mesafede ba lanır.

Arteriyel rekonstrüksiyonda kullanılan venlerle ilgili yapılan bir çalı ma sonucunda venlerin histopatolojik de i ikliklere maruz kaldı ı tanımlanmı tır (114). Bu histopatolojik de i iklikler kontraktıl fenotipte azalmayla beraber dü z kas hücre proliferasyonunu kapsamaktadır (115). Ayrıca vaso vasorum kaybından dolayı geli en mural iskemi, sirkumferansiyal damar duvar gerilimi ve basıncındaki de i iklikler bu süreçte rol almaktadır (116). Ayrıca genellikle greftin hazırlanması sırasında veya nadiren postoperatif dönemde spazm olu ur (25). Hazırlama sırasında olu an yapısal de i ikliklerin e itli farmakolojik solüsyonlarda bekletme yle ve olu an spazmın da bu solüsyonlarla belli basınçta i irilmesiyle giderilebilece i tespit edilmi tir (26).

Koroner bypass cerrahisinde safen ven grefti hazırlanırken olu an spazmın giderilmesi için uygulanan mekanik distansiyon sırasındaki basınca ba lı endotel hasarı geli ebilmektedir. Basıncın 100 mmHg üzerinde tutuldu u uygulamalarda önemli derecede endotel hasarı olu tu u, 100 mmHg altındaki uygulamalarda ise hasarın daha az oldu u belirlenmi tir (107). Biz de bu çalı mamızda mekanik distansiyon basıncını bu çalı manın verileri do rultusunda ortalama 100 mmHg dolayında tuttuk.

Yapılan literatür çalı malarında safen ven hazırlanması sırasında basınçlı i irme ve germenin safen vende endotel harabiyeti ne ve apoptozise neden olaca ı gösterilmi tir (117). Bu nedenle endotel harabiyetini azaltmak için e itli vazodilatör ajanların eklendi i kan ya da serum fizyolojik hazırlama solüsyonları kullanılmaktadır (25).

Heparinli kan ve heparinli serum fizyolojik solüsyonda bekletilen venlerle yapılan çalı mada kanda bekletilen venlerde serum fizyolojik gruba göre daha çok

duvar kasılması ve endotel hücre kaybının meydana geldiği, serum fizyolojik grupta ise damar gevemesinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir (16). Bu nedenle çalışmamızda grupları oluştururken kan kullanılmayıp, sadece serum fizyolojik ve serum fizyolojiye eklenmiş farmakolojik ajanları tercih ettik.

Hazırlama sırasında ortaya çıkan spazmı çözebilmek için çeşitli vazodilatör ilaç kullanılmıştır. Bunların içerisinde nitrogliserin, verapamil ve papaverin en sık kullanılan ajanlar olarak karımıza çıkmaktadır (130). Biz de bu bilgiler ışığında çalışmamızda nitrogliserin, verapamil ve papaverin içeren değişik hazırlama solüsyonu grupları oluşturduk.

Karabulut ve arkadaşlarının çalışmasında serum fizyolojik içerisine nitrogliserin ve verapamil eklenmesiyle safen venede intima ve media hasarının minimal olduğu, ancak serum fizyolojik ve kan ile yapılan mekanik distansiyonun daha fazla miktarda endotel ve media hasarı oluşturduğunu gösterilmiştir (107). He ve arkadaşlarının (26) yaptıkları çalışmada nitrogliserin ve verapamil ile insan safen veninde maksimuma yakın relaksasyon sağladıklarını, bu etkilerin hızlı ve uzun süreli olduğunu bildirmişlerdir. Baumann ve arkadaşları da (120) nonspesifik güçlü vazodilatör olan papaverin ile hazırlanan solüsyonla yeterli relaksasyonun sağlandığını göstermişlerdir. Biz de literatürde en sık kullanılan ve çalışılmış olan bu maddeleri içeren solüsyonların 100 mmHg basınçla uygulandığı venlerde ortaya çıkan endotel hasarını ve apoptosisin bu olaydaki etkisini araştırmayı amaçladık.

Ruobos ve arkadaşları (121) serum fizyolojik, verapamil, nitrogliserin ve papaverin içeren hazırlama ortamlarında oluşan endotel hasarını ışık ve elektron mikroskopuyla incelemişlerdir. Verapamil ve nitrogliserinin, serum fizyolojik ve papaverine göre daha az endotel ve media hasarı oluşturduğunu kanıtlamışlardır. Roberts ve arkadaşları da (30) papaverinle hazırlanan insan safen ven greftinde prostosiklinin azaldığı ve ciddi endotel hasarı oluşturduğunu göstermişlerdir. Papaverinin pH 3-4 olacak şekilde asidik ortam oluşturduğunu ve bu asidik ortamın endotelde hasar meydana getirdiği düşünülmektedir. Bizim ışık mikroskopisi ile yaptığımız histomorfolojik çalışmada nitrogliserin ve verapamil ile işlenen safen venede intima bütünlüğü korunmuş olmakla birlikte az da olsa yer yer endotel hücre kayıpları görülmüştür, intima ve medya tabakasında minimal kalınlıkla birlikte elastin liflerde yapısal bozukluklar tespit edilmiştir. Serum fizyolojik ve papaverin ile işlenen safen veninde ise intima düzensizliğinin yanında endotel kopmaları, endotel hücre kaybı ve bazı alanlarda köpük hücrelerinin yanı sıra yağlı hücreler ve hiperplazik alanlar

görülmü tür. Literatür verileriyle uyumlu bu bulgular bize safen hazırlama solusyonuna verapamil ve nitrogliserin eklenmesinin daha iyi endotel koruma sa ladı nı dü ündürmektedir.

Tüm çalı malarda ortaya konmu olmasına ra men vasküler endotel harabiyetinin nedenleri tam olarak bilinmemektedir. Çe itli teorilerin geli tirildi i bu konuda intrinsik venöz duvar anormallikleri vasküler endotel harabiyetinin en önemli sebebi olarak gösterilmektedir. Bu yapısal anormallikler; incelmi ve düzensizle mi düz kas tabakası, fibröz dejenerasyona u ramı medya tabakası, i mi ve helikal kırılmı kollajen fibriller olarak tanımlanmı tır . Damarların tunika medyasındaki ekstraselüler matriks, elastik lameller ve kollajen fibriller ven histopatolojisinde önemli role sahip oldu u tespit edilmi tir (122). Yapılan çalı malarda duvar dejenerasyonunda bu da ılımının homojen olmadı ı, bazı segmentlerin kalınlı mı ve fibrotikle mi ken bazı segmentlerin anevrizmala tı ı görülmü tür. Bu sonuçlar venlerin elastin, kollajen ve düz kas hücre içeri iyle ilgili yapılan morfolojik ve histokimyasal çalı malarda da saptanmı tır (123).

Günümüzde yapılan ara tırmalar vasküler endotel harabiyeti ve histopa tolojisi için yeni ve oldukça önemli bilgiler vermektedir. Normal vasküler duvar geli imi ve yeniden yapılanmasını etkileyen doku kitle ve yapısını düzenleyen programlanmı hücre ölümü olarak tanımlanan “Apoptozis” güncel konuların ba ında gelmektedir.

Venlerde apoptotik ölümün vasküler yapının ve tonusunun ayarlanmasında büyük önemi olan vasküler düz kas hücreleri ile ili kili oldu u yapılan çalı malarda gösterilmi tir. Dejenere safen ven greftlerin hücrelerinde de apoptozis gösterilmi , böylece intimal lezyonlardaki vasküler düz kas hücrelerinin turnoverinden apoptozisin sorumlu olabilece i ve meydana gelen hücre azalmaya apoptotik vasküler düz kas hücre ölümünün katkıda bul unabilece i gösterilmi tir (124). Ayrıca apoptozis endotel hücreleri ve inflamatuvar yanıt hücreleri gibi di er hücre popülasyonunda da tespit edilmi tir (125). Ven duvarı hücrelerinin disfonksiyonunun hücre siklusu, apoptozisin deregülasyonuna ba lı olması muhtemeldir. Çünkü apoptozis doku hemostazında ve hücre sayısının korunmasında majör bir rol oynar, bu da ven duvarındaki hücre turnoverine etki eder.

Apoptozis ile ilgili birçok çalı ma yapılmı ve bu çalı malarda özellikle vasküler hücrelerin ya ama yetene inin moleküler düzeyde proapoptotik ve antiapoptotik sinyaller arasındaki denge ile belirlendi i gösterilmi tir. Bu olayların bir takım gen familyaları aracılıklıdır ve bunlardan en önemlisi bcl -2 familyasıdır.

Bcl-2 familyası üyelerinden bcl-2 ve bcl-X_L hücrelerin hayatta kalmalarını sağlar ve apoptozisi önlerken, bax ve kaspaz proapoptotik özelliklerinden dolayı hücrede apoptozisi ilerlettiği tespit edilmiştir (126). Bcl-2'nin overekspresyonu bir çok hücre tipinde apoptozise karşı koruyucu olup bcl-2'nin apoptozis inhibisyonuyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Galea ve ark (127) insan safen ven grefti ile yaptıkları bir çalışmada safen venin 350 mmHg basınçla 2 dakika süreyle şişirilmesi sonrası ortaya çıkan değişimleri belirlemek amacıyla ven duvarında apoptosiz, hücre proliferasyonu ve hücrelerde erken uyarılara karşı cevap veren bir transkriptör faktör olan c-fos mRNA düzeylerine bakmışlardır. Ven duvarında apoptosiz ve c-fos mRNA protein düzeyleri artarken, hücre proliferasyonunun azaldığını tespit etmişler ve böylece bu değişimin safen ven yetmezliğinde etkili olabileceğini düşünülmektedir. Yapılan bir diğer çalışmada da insan safen ven grefti hazırlanma sırasında basınçla şişirmenin ven greftin düz kas hücrelerinde bir mitojen-aktivatör protein kinaz olan p38 aktivasyonunu arttırdığı ve beraberinde apoptozis geliştiğinin de safen ven yetmezliğine olumlu katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (128).

Anjiyografik olarak % 70'in üzerinde tıkanıklık tespit edilen ve tekrar koroner arter bypass ameliyatı geçiren 14 hastanın safen ven greft duvarında TUNEL metodu ve immunohistokimyasal antikorlar kullanılarak proapoptotik (Bax, p53, CPP32) ve antiapoptotik (Bcl-2) proteinler gösterilmeye çalışılmıştır. Safen ven greftin aterosklerotik alanında proapoptotik (Bax, p53, CPP32) proteinler daha fazla tespit edilmiş ancak ultrastruktural analizlerde apoptozisin özelliklerini açıkça çıkarmada yetersiz kalmıştır. Ayrıca bu alanda hücre ölümü sıklıkla gözükürken, TUNEL metoduyla bcl-2 negatif korelasyon gösterilmiştir. Safen venin non- aterosklerotik alanında ise TUNEL metoduyla hem antiapoptotik hem de proapoptotik proteinler gösterilmiştir (129).

Jarzembowski ve ark (131) safen venin implantasyon öncesi bekletildiği solusyonun endotelial ve düz kas hücrelerinde apoptozise yol açtığını, piruvat preserve solusyonlarla bu olayın çok daha az olduğunu göstermişlerdir.

Domuz koroner endotel hücreleri ile rat aortik düz kas hücreleriyle yapılan bir invitro çalışmada, papaverin ile 1 saatlik inkubasyon sonrası hem düz kas hücreleri ve hem de endotelial hücrelerinde TUNEL metoduyla boyanmış apoptotik hücre sayılarında belirgin artış gösterilmiştir (119).

Bizim çalı mamızda immunohistokimyasal olarak bax, bcl ve kaspaz antikoları kullanılarak serum fizyolojik (kontrol), papaverin, verapamil ve nitrogliserin solüsyonları ile safen vende mekanik distansiyon uygulandı. Kontrol ve papaverin gruplarında bax (+) boyanan hücreler sırasıyla % 85.00 ve % 64.25 iken verapamil ve nitrogliserin gruplarda ise % 23.75 ve %22.00 sonucu bulunmu böylece kontrol ve papaverin solüsyonlarıyla i irilmi safen vendeki bax (+) yüksekli i anlamlı bulunmu ve apoptotik aktivitenin arttı ı tespit edilmi tir. Bcl -2 (+) boyanan hücre ortalamaları kontrol ve papaverin grubunda sırasıyla % 2.5 ve % 2.75 iken verapamil ve nitrogliserin grubunda ise % 7.25 ile % 8.88 sonucu elde edilmi böylece verapamil ve nitrogliserindeki bcl -2 artı ı anlamlı kabul edilmi ve apoptotik aktivitesinin azaldı ı sonucuna varılmı tir. Her dört ven grubun incelenmesinde kaspaz (+) boyanan hücre sayısının fazla oldu u, ancak birbirine yakın sayısal sonuçlar elde edilmesi nedeniyle istatistiksel olarak anlam bulunmamı tir.

Görülüyor ki tüm bu yapılan çalı malarda damar duvarının katmanlarında proapoptotik ve antiapoptotik mediyatörlerin seviyelerinde fa rklılıklar tespit edilmi tir. Bunun nedenini apopitotik süreç içerisinde rol alan tüm maddelerin kendi aralarındaki çalı ma düzeninde bilinmeyen bir etkinin olabilece ini dü ündürmektedir.

Sonuç olarak safen ven hazırlanması sırasında verapamil ve nitrogliserin solüsyonlarının kullanılması hem endotel harabiyetini hem de programlanmı hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozis aktivitesini azaltı ı gösterilmi tir. Ancak tüm bunların yanında ya , çevresel özellikler, hormonal ve genetik faktörlerin ven duvarı üzerindeki etkilerini gözardı etmemek gerekir.

7. KAYNAKLAR

1. Favaloro RG. Saphenous vein autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion: operative technique. *Ann Thorac Surg*, 1968; 5:334-339
2. Berki T. Koroner arterlerin tıkkayıcı hastalıkları. Bozer EY (Ed.)- *Kalp Hastalıkları ve Cerrahisi*. Ankara: Ayyıldız A. . 1985: 827-890.
3. Erentürk S. Koroner bypass operasyonlarında greft seçimi *GKDC Derg*, 1997; 5 145-155
4. Ramos JR, Berger K, Mansfield PB, Sauvage LR. Histologic fate and endothelial changes of distended and nondistended vein grafts. *Ann Surg*, 1976; 183:205-228.
5. He G\W, Rosenfeldt FL, Angus JA. Pharmacological relaxation of the saphenous vein during harvesting for coronary artery bypass grafting *Ann Thorac Surg*, 1993.55:1210-1217
6. Rosenfeldt FL, He GW, Buxton BF, Angus JA. Pharmacology of coronary artery bypass grafts *Ann Thorac Surg*, 1999; 67:878-888
7. Kaya M, Polat S, Mete UO, Top Ö. *Ozel Histoloji Kitabı*, Adana: ÇUTF, 1996:37-50
8. Cambria RP, Megerman J, Abbott WMM. Endothelial preservation in reversed and insitu autogenous vein grafts *Ann Surg*, 1985; 202:50-55.
9. Boerboom LE, Bonchek LI, Kissebah AH, et al. Effect of surgical trauma on tissue lipids in primate vein grafts: relation to plasma lipids. *Circulation*, 1980; 62(supplI):142-147.
10. Angelini GD, Bryan AJ, Williams HMJ, 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; 99:433-439
11. Bennett MR. Apoptosis of vascular smooth muscle cells in vascular remodeling and athero-sclerotic plaque rupture. *Cardiovasc Res* 1999;41:361 -368.

12. Fisher SA, Langille BL, Srivastava D. Apoptosis during cardiovascular development. *Circ Res* 2000;10:856-864.
13. Kock MM, Knaapen MW. The role of apoptosis in vascular disease. *J Pathol* 2000; 190 : 267 -80.
14. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*. 9. Baskı, Appleton & Lange. 1998: 202-217
15. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W (editors). *Histology: a text and atlas with cell and molecular biology*. 4. Baskı, Lippincott Williams & Wilkins. 2003: 341 -342.
16. Perroulaz G. Morphology and structure of the venous wall. Ramelet AA, Monti M, Bounameaux H, Buchheim G, Capasso P (editors). *Phlebology The Guide*. 4.baskı, Paris, France Elsevier SAS. 1999: 51 -58.
17. Süngün M. Variköz venler ve kronik venöz yetmezlik. Duran E (editor). *Kalp ve Damar Cerrahisi*. 1. Baskı, İstanbul, Çapa Tıp Kitapevi. 2004: 879 -896.
18. Taıl M. Üst ve alt ekstremitelerinin anatomisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgery*. 2003;8(2):73-80.
19. Yayıcıoğlu A, Arıbal D, Tatlıcıoğlu E (editörler). *Cerrahi Damar Hastalıkları*. 2. Baskı, Ankara Türkiye Klinikleri Yayınevi. 1987: 318 -334.
20. Ramelet AA, Monti M, Bounameaux H, Buchheim G, Capasso P (editors). *Venous physiology and pathophysiology of the lower limbs*. *Phlebology The Guide*. 4th Edition, Paris, France Elsevier SAS. 1999: 59 -75.
21. Falco E, Celoria G, Nardini A. Femoropopliteal bypass with reversed saphenous vein. *Minerva Chir* 1995;50:883 -888.
22. Klinkert P, Schepers A, Burger DHC, et al. Vein versus polytetrafluoroethylene in above-knee femoropopliteal bypass grafting. Five years results of a randomized controlled trial. *J Vasc Surg* 2003;37:149 -155.
23. Kolbaktır F, Keçelgil HT, Yılman M, Erk MK. Femoropopliteal ve infrapopliteal bypass uygulamaları. *GKD Cer Derg* 1995;3:131 -133.
24. Sauza DS, Bomfin D, Skoglund H at. High early patency of saphenous vein graft

- coroner artery bypass greft harvested with su rrounding tissue. *Ann Thorac Surg*. 2001;71:902-7
25. Ramos JR, Berger K, Mansfield PB, Sauvage LR. Histologic fate and endothelial changes of distended and nondistended vein grafts. *Ann Surg*, 1976; 183:205-228.
 26. He GW, Rosenfeldt FL, Angus JA Pharmacological relaxation of the saphenous vein during harvesting for corona artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg*, 1993;55: 1210-1217
 27. Rosenicldt FL, He GW, Buxton BF, Angus JA. Pharmacology of coronary artery bypassgrafts. *Ann Thorac Surg*, 1999; 67: 878-888
 28. He GW, Rosenfeldt FL, Buxton BF, Angus JA. Reactivity of human isolated internalmammary artery to constrictor and dilator agents. Implications for treatment of internal mammary artery spasm *Circulation*, 1989; 80(Suppl I): 141-150.
 29. Jesuthasan B, Rosenfeldt FL, Angus JA. Optimal dilators for saphenous vein grafts, *Mol Cell Cardiol*, 1996, 28:272-278
 30. Roberts AJ, Hay DA. Mehta JL, et al. Biochemical and ultrastructural l integrity of vein saphenous vein conduit during coronar artery bypass grafting. Reliminary results of the effect of papaverine. *J Thorac Surgery Surg* , 1984;88:39-4K
 31. Sundt III TM, Sundt TM. Principles of preparation of vein bypass grafts to maximize patency. *J Neurosurgery* 1987:66: 172 -180
 32. Brady WR, Angel WW Koiec JC. Histologic fate of venous coronar artery bypass greft in dogs. *Am J. Pathoy*, 1972; 66: 11 -119
 33. Adcock OT, Adcock GL, Wheeler JR, et al. Optimal techniques for harvesting and preparation of reversed autogenous vein grafts for use as arte rial subtitues: A review *Surgery*, 1984; 96:886-893.
 34. Metke MP, Lie JT, Fuster V, et al. Reduction of intimal thickening in canine coronary bypass vein graft with dipyridamol and aspirin. *Am J Cardiol*, 1979; 43:1144-1148.

35. Baldermann SC, Montes M, Schwartz K, et al. Preparation of Venous Allografts: Comparison of Techniques. *Ann Surg*, 1984, 200:117-13036.
36. Bourassa MG, Campeau L, Lesperance J. Changes in grafts and coronary arteries after coronary bypass surgery. *Cardiovasc Clin*, 1991;21(2):83-100.
37. Unni KK, Kottke BA, Titus JL, et al. Pathologic changes in aorto-coronary saphenous vein grafts *Am J. Cardiol*, 1974; 34:526-532.
38. Barboriak JJ, Van Horn DL, Pintar K, et al. Scanning electron microscope study of human veins and aorto coronary artery vein grafts. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1976, 673- 679.
39. Fuchs JCA, Mitchener JS, Hagen PO. Postoperative changes in autologous vein grafts. *Ann Surg*, 1978,188 1-15
40. Bourassa MG, Campeau L, Lesperance J. Changes in grafts and in coronary arteries after coronary bypass surgery. *Cardiovasc Clin*, 1991: 21 (2): 83 -100.
41. Bulkley BH, Hutchins GM. Accelerated "atherosclerosis" Amorphologic study of 97 saphenous vein coronary artery bypass grafts. *Circulation*, 1977. 55:163-169.
42. Ross R, Gjomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med*, 1976; 295: 377-396.
43. Skarvan K, Graedel E, Hasse J, Stutz P, Pflüsterer M Coronary artery spasm after coronary bypass surgery. *Anesthesiology*, 1984; 66:323-627.
44. Baçgel FF. Aorto koroner by-pass operasyonlannda internal torasik arterin kullanılması. *Uzmanlık Tezi*, Prof.Dr.Siyami Ersek Gögüs Kalp Damar cerrahisi Merkezi, Istanbul,1998
45. Grondin CM, Campeau L, Lesperance J, Enjalbert M, Bourassa MG. Comparison of late changes in internal mammary artery and saphenous vein grafts in two consecutive series of patients 10 years after operation. *Circulation*, 1984; 70 (Suppl 1) :208-212
46. Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi* 2001;2(1):91-95
47. Ayalıo lu E. Apoptoz. *T Klin J Med Sci* 2001;21:57-62.

48. Güçer , Tınaztepe K. Böbrek hastalıklarında apopitozisin rolü. Hacettepe Tıp Dergisi 2001;32(2):160-168.
49. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implication in tissue kinetics. Br J Cancer 1972;26:239 -257
50. Mene P, Amore A. Apoptosis: potential role in renal diseases. Nephrol Dial Transplant 1998;13: 1936-43.
51. Sungurluo lu A, Erdemli EA, Tekelio lu M. Programlanmı hücre ölümü: Apopitozis. T Klin Tıp Bilimleri 1996;16:333 -337.
52. Cohen JJ. Apoptosis: Mechanisms of life and death in the immune system. J Allergy Clin Immunol 1999;103(4):548 -554
53. Alles A, Alley K, Barrett JC, Buttyan R, Columbano A, Cope FO et al. Apoptosis: a general comment. FASEB J 1991;5: 2127-8.
54. Hengartner MO. Programmed cell death in the nematode *C. elegans*. Recent Prog Horm Res 1999; 54: 213-24.
55. Leist M, Jaattela M. Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. Nat Rev Mol Cell Biol 2001;2(8): 589-98.
56. Gavrieli Y, Sherman Y, Sasson SAB. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. The Journal of Cell Biology 1992;119:493-501.
57. Ormerod MG, Oneill CF, Robertson D, Harrap KR. Cisplatin induces apoptosis in a human ovarian carcinoma cell line without concomitant internucleosomal degradation of DNA. Exp Cell Resc 1994;211:231 -237.
58. Fesus L, Davies PJ, Piacentini M. Apoptosis: Molecular mechanisms in programmed cell death. Eur J Cell Biol 1991;56:170 -177.
59. Zwaal RF, Schroit AJ. Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. Blood 1997;89:1121-1132.
60. Fadok VA, Savill JS, Haslett C, Bratton DL, Doherty DE, Campbell PA, Henson

- PM. Different populations of macrophages use either the vitronectin receptor or the phosphatidylserine receptor to recognize and remove apoptotic cells. *J Immunol* 1992;149:4029–4035.
61. Almeida CJ, Linden R. Phagocytosis of apoptotic cells: a matter of balance. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62(14):1532-1546.
 62. Ullrich A, Schlessinger J. Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell* 1990;61:203-212.
 63. Van Loo G, Saelens X, Van Gurp M, MacFarlane M, Martin SJ, Vandenabeele P. The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet. *Cell Death Differ* 2002;9(10):1031-1042.
 64. Haunstetter A, Izumo S. Apoptosis: Basic Mechanisms and Implications for Cardiovascular Disease. *Circ Res* 1998;82:1111-1129.
 65. Lowe SW, Schmitt EM, Smith SW, Osborne BA, Jacks T. p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature* 1993;362(6423):847–849.
 66. Clarke AR, Purdie CA, Harrison DJ, Morris RG, Bird CC, Hooper ML, Wyllie AH. Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways. *Nature* 1993;362(6423):849–852.
 67. Zheng L, Fisher G, Miller RE, Peschon J, Lynch DH, Lenardo MJ. Induction of apoptosis in mature T cells by tumour necrosis factor. *Nature* 1995;377(6547):348–351.
 68. Marsters SA, Sheridan JP, Pitti RM, Brush J, Goddard A, Ashkenazi A. Identification of a ligand for the death-domain-containing receptor Apo3. *Curr Biol* 1998;8:525–528.
 69. Itoh N, Yonehara S, Ishii A, Yonehara M, Mizushima S, Sameshima M et al. The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell* 1991;66:233–243.

70. Walczak H, Degli-Esposti MA, Johnson RS, Smolak PJ, Waugh JY, Boiani N et al. TRAIL-R2: a novel apoptosis-mediating receptor for TRAIL. *Embo J* 1997;16:5386–5397.
71. Itoh N, Nagata S. A. Novel protein domain required for apoptosis: mutational analysis of human Fas antigen. *J Biol Chem* 1993;268:10932–10937.
72. Naismith JH, Sprang SR. Modularity in the TNF-receptor family. *Trends Biochem Sci* 1998;23(2): 74-79.
73. Tartaglia LA, Ayres TM, Wong GH, Goeddel DV. A novel domain within the 55 kd TNF receptor signals cell death. *Cell* 1993;74:845–853.
74. Slee EA, Harte MT, Kluck RM, Wolf BB, Casiano CA, Newmeyer DD et al. Ordering the cytochrome c-initiated caspase cascade: hierarchical activation of caspases-2, -3, -6, -7, -8, and -10 in a caspase-9-dependent manner. *J Cell Biol* 1999;144(2): 281-292.
75. Li LY, Luo X, Wang X. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature* 2001;412(6842): 95-99.
76. Bernardi P, Scorrano L, Colonna R, Petronilli V, Di Lisa F. Mitochondria and cell death. Mechanistic aspects and methodological issues. *Eur J Biochem* 1999;264(3): 687-701.
77. Loeffler M, Kroemer G. The mitochondrion in cell death control: certainties and incognita. *Exp Cell Res* 2000;256(1): 19-26.
78. Kaufmann SH, Earnshaw WC. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. *Exp Cell Res* 2000;256(1): 42-49.
79. Wang X. The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev* 2001;15(22): 2922-2933.
80. Bratton SB, MacFarlane M, Cain K, Cohen GM. Protein complexes activate distinct caspase cascades in death receptor and stress-induced apoptosis. *Exp Cell Res* 2000;256(1): 27-33.
81. Kuida K, Zheng TS, Na S, Kuan C, Yang D, Karasuyama H et al. Decreased apoptosis in the brain and premature lethality in CPP32-deficient mice. *Nature* 1996;384(6607): 368-372.

82. Denault JB, Salvesen GS. Caspases: keys in the ignition of cell death. *Chem Rev* 2002;102(12): 4489-500.
83. Richardson H, Kumar S . Death to flies: *Drosophila* as a model system to study programmed cell death. *J Immunol Methods* 2002;265(1-2): 21-38.
84. Li P, Allen H, Banerjee S, Franklin S, Herzog L, Johnston C et al. Mice deficient in IL-1 beta-converting enzyme are defective in production of mature IL-1 beta and resistant to endotoxic shock. *Cell* 1995;80(3): 401-411.
85. Wang S, Miura M, Jung YK, Zhu H, Li E, Yuan J . Murine caspase-11, an ICE-interacting protease, is essential for the activation of ICE. *Cell* 1998;92(4): 501-509.
86. Kuida K, Haydar TF, Kuan CY, Gu Y, Taya C, Karasuyama H et al. Reduced apoptosis and cytochrome c-mediated caspase activation in mice lacking caspase 9. *Cell* 1998; 94(3): 325-337
87. Kuida K, Zheng TS, Na S, Kuan C, Yang D, Karasuyama H et al. Decreased apoptosis in the brain and premature lethality in CPP32 -deficient mice. *Nature* 1996;384(6607): 368-372.
88. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem* 1999;68: 383-424.
89. Nechushtan A, Smith CL, Lamensdorf I, Yoon SH, Youle RJ. Bax and Bak coalesce into novel mitochondria-associated clusters during apoptosis. *J Cell Biol* 2001;153(6): 1265-1276.
90. Tsujimoto Y, Shimizu S . VDAC regulation by the Bcl-2 family of proteins. *Cell Death Differ* 2000;7(12): 1174-1181.
91. Vaux DL, Cory S, Adams JM . Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988;335(6189): 440-442.
92. Borner C . The Bcl-2 protein family: sensors and checkpoints for life-or-death decisions. *Mol Immunol* 2003;39(11): 615-647.

93. Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Dev* 1999;13:1899-1911.
94. Verhagen AM, Silke J, Ekert PG, Pakusch M, Kaufmann H, Connolly LM et al. HtrA2 promotes cell death through its serine protease activity and its ability to antagonize inhibitor of apoptosis proteins. *Biol Chem* 2002;277(1): 445-454.
95. Conradt B, Horvitz HR. The *C. elegans* protein EGL-1 is required for programmed cell death and interacts with the Bcl-2-like protein CED-9. *Cell* 1998;93(4): 519-529.
96. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2002;2(9): 647-656.
97. Wei MC, Zong WX, Cheng EH, Lindsten T, Panoutsakopoulou V, Ross AJ et al. Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death. *Science* 2001;292(5517): 727-730.
98. Reed JC. Bcl-2 family proteins. *Oncogene* 1998;17(25):3225 -3236.
99. Walsh K, Smith RC, Kim HS. Vascular Cell Apoptosis in Remodeling Restenosis, and Plaque Rupture. *Circ. Res* 2000;87:184-188.
100. Bennett MR. Apoptosis of vascular smooth muscle cells in vascular remodelling and atherosclerotic plaque rupture. *Cardiovascular Research* 1999;41:361-368.
101. Bennett MR. Apoptosis in the cardiovascular system. *Heart* 2002;87:480 -487.
102. McCarthy NJ, Bennett MR. The regulation of vascular smooth muscle cell apoptosis. *Cardiovascular Research* 2000;45:747-755.
103. Cho A, Courtman D, Langille L. Apoptosis (programmed cell death) in arteries of the neonatal lamb. *Circ Res* 1995;76:168 -175.
104. Cho A, Mitchell L, Koopmans D, Langille BL. Effects of changes in blood flow rate on cell death and cell proliferation in carotid arteries of immature rabbits.
105. Evelio Rodriguez, Erica H. Lambert, BS^a, Michael G. Magno, John D. Mannion. Contractile smooth muscle cell apoptosis early after saphenous vein grafting. *Ann Thorac Surg* 2000;70:1145-1152

106. James O'Brien, Michael L. Lambert, Yi Shi, Dian Wang. Early injury to media after saphenous vein grafting. *Ann Thorac Surg* 1998; 65:1273 -8
107. Karabulut H, Karabulut O, Arbak S ve ark. Koroner bypass cerrahisinde kullanılan safen veninin hazırlanmasında endotel hasarı: Isik ve elektron mikroskopik inceleme *Türk Kardiyol Dern Ar* . 1998, 26:416-424.
108. Pollman MJ, Hall JL, Mann MJ, Zhang L, Gibbons GH. Inhibition of neointimal cell bcl-x expression induces apoptosis and regression of vascular disease. *Nature Med* 1998;4:222–227.
109. Thompson RW, Liao SX, Curci JA. Vascular smooth muscle cell relevant in vivo. Moreover, a closer examination of the apoptosis in abdominal aortic aneurysms. *Coron Artery Dis* 1997;8:623–631.
110. Kockx MM, De Meyer GR, Muhring J, Jacob W, Bult H, Herman AG. Apoptosis and related proteins in different stages of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1998;97:2307–2315.
111. Kim HS, Hwang KK, Seo JW, Kim SY, Oh BH, Lee MM, Park YB. Apoptosis and regulation of Bax and Bcl-X proteins during human neonatal vascular remodeling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:957–963.
112. Perlman H, Maillard L, Krasinski K, Walsh K. Evidence for the rapid onset of apoptosis in medial smooth muscle cells following balloon injury. *Circulation* 1997;95:981–987.
113. Ihling C, Haendeler J, Menzel G, Hess RD, Fraedrich G, Schaefer HE, Zeiher AM. Co-expression of p53 and MDM2 in human atherosclerosis:
114. Charles AK, Gresham GA. Histopathological changes in venous grafts and in varicose and non-varicose veins. *J Clin Pathol* 1993;46:603 -606.
115. Kockx MM, Cambier BA, Bortier HE, De Meyer GRY, Van Cauwelart PA. The modulation of smooth muscle cell phenotype is an early event in human aorta-coronary saphenous vein grafts. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1992;420:155-162.
116. Karayannacos PE, Rittgers E, Kakos GS, Williams TE, Meckstroth CV, Vasko JS. Potential role of velocity and wall tension in vein graft failure. *J Cardiovasc Surg* 1980;21:171-178.

117. Mohammad Sotoudeh, Yi-Suhan Li, Noriyuki Yajima. Induction of apoptosis in vascular muscle smooth cells by mechanical stretch. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.282:1207-1716.
118. Haudenschild CC, Gould KE, Quist WC, LiGerfo FW. Protection of endothelium in vessel segments excised for grafting *Circulation*, 1981, 64 (suppl2):101-107
119. Gao YJ, Stead S, Lee RM. Papaverine induces apoptosis in vascular endothelial and smooth muscle cells 2002 Apr 19;70(22):2675-85.
120. Baumann FG, Catinella FP, Cunningham JN, Spencer FC. Vein contraction and smooth muscle cell extensions as causes of endothelial damage during graft preparation. *Ann Surg*, 1981; 194:199-211.
121. Ruobos N, Rosenfeldt FL, Richards SM, et al. Improved preservation of saphenous vein grafts by the use of glyceryl trinitrate-verapamil solution during harvesting *Circulation* 995.92 (Suppl 2). 11-31-36
122. 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;17:234-238.
123. O'Donnell TF, Iafrati MD. Varicose veins. Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (editors). *Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques*. 4th Edition, Cambridge Massachusetts, USA Blackwell Science Inc. 1996: 1187-1198.
124. Thulesius O, Said S, Shuhaiber H, Neglen P, Gjores JE. Endothelial mediated enhancement of noradrenaline induced vasoconstriction in normal and varicose veins. *Clin Physiol* 1991;11:153-159.
125. Ascher E, Jacob T, Hingorani A, Tsemekhin B, Gunduz Y. Expression of molecular mediators of apoptosis and their role in the pathogenesis of lower extremity varicose veins. *J Vasc Surg* 2001;33:1080-1086
126. Walsh K, Smith RC, Kim HS. Vascular Cell Apoptosis in Remodeling Restenosis, and Plaque Rupture. *Circ. Res* 2000;87:184-188.

127. Galea J, Armstrong J, Cooper G, Crossman DC. Alterations in c-fos expression, cell proliferation and apoptosis pressure distended human saphenous vein. *Cardiovascular Research* 44;(1999):436-448.
128. Cornelissen J, Armstrong J, Holt CM. Mechanical stretch induces phosphorylation of p38 and apoptosis in human saphenous vein *Vasc Biol*. 2004;24:451-456
129. Wang AY, Bobryshev YV, Cherian SM, Liang H, Tran D, Inder SJ, Lord RS, Ashwell KW, Farnsworth AE. Expression of apoptosis-related proteins and structural features of cell death in explanted aortocoronary saphenous vein bypass grafts. *Cardiovasc Surg* 2001 Aug;9(4):319-28
130. Jesuthasan LSB, Angus J A, Rosenfeldt FL . *In vitro* comparison of glyceryl trinitrate-verapamil with other dilators of human saphenous vein. *ANZ Journal of Surgery* Volume 73 Issue 5 Page 313-320, May 2003
131. Jarzembowski T, Navarro A, Zhang W. Effect of preservation media on cellular apoptosis in autologous saphenous vein grafts procured for coronary revascularization. *Journal of Surgical Research*. 114;2-255

8.ÖZGEÇM

1971 yılında Kurtalan'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Batman'da tamamladım.1989 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne girdim ve 1995 yılında tıp eğitimi tamamladım. Batman Belediyesi Sağlık Merkezinde 1996 ve 2000 yılları arasında pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2001 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavı'nı kazanarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahi Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitime başladım ve halen burada eğitime devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk babasıyım.