

## Mekanik Distansiyon Uygulanan Safen Vende Apoptozis Üzerine Vazodilatör Solüsyonların Etkisi

Rafet TOK<sup>1</sup>, Ayhan UYSAL<sup>a2</sup>, Oktay BURMA<sup>2</sup>, İbrahim Hanifi ÖZERCAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Batman Özel Dünya Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği, Batman, Türkiye

<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

<sup>3</sup>Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmamızda, safen vende mekanik distansiyonun sebep olduğu endotelyum harabiyetinde, apoptotik aktivitenin rolünü araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya her iki cinsten, koroner arter bypass greft operasyonuna alınan, venöz yetmezliği olmayan 32 hasta dahil edildi. Herbir grupta 8 hasta olmak üzere hastalar 4 gruba ayrıldı; Grup1 (Kontrol), Grup 2 (Papaverin), Grup 3 (Verapamil) ve Grup 4 (Nitrogliserin). Herbir grubun VSM'larından doku örnekleri alındı. Doku kesitlerinde immünohistokimyasal boyama ile proapoptotik bax, kaspaz-9 ve antiapoptotik bcl-2 boyanma yüzdeleri araştırıldı.

**Bulgular:** Gruplarda yer alan safen venlerde proapoptotik Bax (+) hücre yüzdeleri sırasıyla  $85.00 \pm 6.89$ ,  $64.63 \pm 8.73$ ,  $23.75 \pm 4.20$  ve  $22.00 \pm 7.69$  olarak saptandı. Verapamil ve nitrogliserin grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmazken, bu gruplardaki değerler kontrol ve papaverin grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $p < 0.001$ ). Antiaapoptotik Bcl (+) boyanma yüzdeleri kontrol ve papaverin gruplarında en düşüktü (kontrol:  $2.50 \pm 1.41$ , papaverin:  $2.75 \pm 1.28$ , verapamil:  $7.25 \pm 1.83$  ve nitrogliserin:  $8.88 \pm 2.30$ , sırasıyla). Verapamil ve nitrogliserin gruplarında elde edilen yüksek yüzdeler kontrol ve papaverin grubuna göre anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ). Bir diğer antiapoptotik boyanma açısından ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

**Sonuç:** Safen ven grefti hazırlaması sırasında mekanik distansiyon oluşması apoptozisi indüklemektedir. Ancak safen ven hazırlama solüsyonlarına verapamil ve nitrogliserin ilavesiyle apoptotik aktivitenin azaltılabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptozis, Vazodilatör, Safen ven

### ABSTRACT

#### The Effects of Vasodilator Solutions on Apoptosis in Saphenous Vein with Mechanical Distention Application

**Objective:** This study explores the influence of vasodilators on the apoptotic activity related to endothelial damage caused by mechanical distension of the saphenous vein.

**Materials and Methods:** Thirty-two patients without varicose veins undergoing coronary artery bypass graft operations were divided into four equal groups. Group I (control) Normal Saline, group II Papaverine group III Verapamil and group IV Nitroglycerine solutions. Percentage of immunohistochemical reactivity, pro-apoptotic bax and kaspaz-9 and anti-apoptotic bcl-2 were measured in the samples.

**Results:** The percentage of cells which were positive for Bax (+) In Group I (Control) was  $85.00 \pm 6.89$ , Group II (Papaverine)  $64.63 \pm 8.73$ , Group III (Verapamil)  $23.75 \pm 4.20$  and Group IV (Nitroglycerine)  $22.00 \pm 7.69$ . While there was no statistical difference between verapamil and nitroglycerin groups, they both had significantly decreased percentage of cells with proapoptotic Bax (+) compared to the control and the papaverine groups ( $p < 0.001$ ). Percentage of cells that were stained with the antiapoptotic BCL (+) stain were lowest in the control ( $2.50 \pm 1.41$ ) and the Papaverine ( $2.75 \pm 1.28$ ) groups and significantly higher in the Verapamil ( $7.25 \pm 1.83$ ) and Nitroglycerine ( $8.88 \pm 2.30$ ) groups ( $p < 0.001$ ). There was no difference between the groups with respect to Caspase-9 immunoreactivity.

**Conclusion:** The results of this study suggest that addition of Verapamil and or Nitroglycerine to the solutions that are used in the preparation of the saphenous vein might have a beneficial effect on the reduction of the apoptotic activity.

**Key words:** Apoptosis, Vasodilator, Saphenous vein

Safen ven, çapının geniş olması, anatomik olarak uzun seyretmesi, manipülasyona uygunluğu, uzun süre canlılığını koruması ve çıkarılmasındaki kolaylık nedeniyle koroner bypass cerrahisinde internal torasik arter ile birlikte en çok kullanılan grefttir (1).

Koroner bypass cerrahisinde greft olarak kullanılan safen venlerin postoperatif ilk birkaç ay içinde

%13-14'lük bölümünün tıkandığı (2), birinci yılda ise safen ven duvarının intimasında ve düz kas hücrelerinde proliferasyonun başladığı görülmüştür (3). Takip eden yıllarda ise intimal hiperplazinin arttığı ve yıl başına % 2 greft tıkanmasına yol açtığı tespit edilmiştir (2). By-pass sonrası safen ven greftinin tıkanmasının değişik nedenleri olmakla birlikte hazırlama sırasında

<sup>a</sup> Yazışma Adresi: Dr. Ayhan UYSAL, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye Tel: 04143186060 e-mail: uysalay23@yahoo.com

yüksek basınçla şişirmenin safen ven greftinde endotel ve medya hasarına yol açtığı (4), böylece endotelde oluşan hasarın erken dönemde trombüs, geç dönemde ise lipid birikimine yol açarak greft tıkanmasına sebep olduğu tespit edilmiştir (6).

Safen ven greftinde oluşan endotel hasarının patogenezi halen tartışılmaya devam edilmektedir. Son zamanlarda endotel hasar oluşumunda apoptozisin de rolü olabileceği ileri sürülmektedir. Apoptozis, damar duvarının hücresel kompozisyonunun kontrolünde önemli bir role sahiptir ve hücre yapısını düzenleyen programlanmış hücre ölümü olarak da tanımlanabilir.

Hazırlama sırasında oluşan yapısal değişikliklerin vazodilatör özellikte farmakolojik ajanlar içeren değişik solüsyonlarda bekletilip belirli bir basınçta şişirilmesiyle giderilebileceği gösterilmiştir (6). Ancak oluşan endotel hasarında apoptozisin rolü ve kullanılan hazırlama solüsyonlarının bu olayı engellemede etkin olup olmadıkları yeterince araştırılmamıştır.

Bu çalışmamızda verapamil, nitroglicerini ve papaverin ilave edilmiş hazırlama solüsyonlarıyla oluşturulan mekanik distansiyonun safen vendeki apoptotik aktivite üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi ve Patoloji Anabilim Dalları tarafından gerçekleştirildi. Yapılacak çalışma hastalara anlatılarak Helsinki Deklarasyonu prensiplerine uygun olarak yapıldı. Çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Merkezi tarafından desteklendi.

Çalışmaya her iki cinsten, koroner arter bypass greft operasyonu geçirecek varis ve venöz yetmezlik tanısı almamış, sağlıklı vena safena magna (VSM)'ya sahip 32 hasta alındı. Hastalar 8'erli 4 gruba ayrıldı.

### 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 şişirildi, ardından bir saat süre ile aynı solüsyonda bekletildi.

Grup 2 (Papaverin grubu): Safen veni papaverinli serum fizyolojik solüsyonu (300 cc %0.9 NaCl heparinli serum fizyolojik solüsyonu içine 20 mg papaverin -Papaverin amp 40mg/2ml- konularak hazırlanan solüsyon) ile 100 mmHg basınçla 2 dakika süre ile şişirildi, ardından bir saat süre ile aynı solüsyonda bekletildi.

Grup 3 (Verapamil grubu): Safen veni Verapamilli serum fizyolojik solüsyonu (300 cc %0.9 NaCl heparinli serum fizyolojik solüsyonu içine 5 mg verapamil -İsoptin amp 5mg/2ml- konularak hazırlanan solüsyon)

ile 100 mg basınçla 2 dakika süre ile şişirildi, ardından bir saat süre ile aynı solüsyonda bekletildi.

Grup 4 (Nitroglicerini grubu): Safen veni nitroglicerini serum fizyolojik solüsyonu (300 cc %0.9 NaCl heparinli serum fizyolojik solüsyonu içine 2.5 mg nitroglicerini (Perlinganit amp 10mg/10ml) konularak hazırlanan solüsyon) ile 100 mmHg basınçla 2 dakika süre ile şişirildi, ardından bir saat süre ile aynı solüsyonda bekletildi.

### Damar Örneklerinin Alınması-Hazırlanması:

Koroner bypass operasyonu için aynı cerrahi ekip tarafından hazırlanan VSM greftlerinden 5'er cm'lik safen ven parçalarının distal uçları bağlanıp proksimal uçları kanüle edildi. Safen venler hazırlanan solüsyonlarla üçlü musluğun bir ucundan 20 cc'lik enjektörle ortalama 100 mmHg basınçta şişirildi. Bu işlem üçlü musluğun diğer ucundan yerleştirilen transdüser aracılığıyla monitörize edildi (Resim 1). Mütakiben her bir vena safena magnadan yaklaşık 2 cm doku örneği alındı. Alınan doku örnekleri %10'luk formaldehitte tespit edildikten sonra parafin bloklara gömüldü.



Resim 1. Safen venin 100mmHg basınçla şişirilmesi

### Histomorfolojik İnceleme:

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

### İmmunohistokimyasal İnceleme:

Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4µm kalınlığındaki kesitlere avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immunohistokimyasal olarak bax, bcl-2 ve kaspaz-9 uygulandı. Kesitler bax, bcl-2 için deparafinize ve rehidrate edildikten sonra endojen

peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla 5 dk. %3 hidrojen peroksitte tutuldu. Daha sonra distile su ile yıkayıp 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 yıkayıp 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) antikoru uygulandı. Ardından 0,001 M, pH 7.4 olan PBS ile yıkayarak avidin- biotin peroksidaz ile inkübe edildi. AEC kromojen ile boyandı. Bütün kesitlere Mayer Hematoksileni ile zıt boyama yapıldı ve özel kapatma maddesi (Ultra Mount Medium) ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal inceleme Enrico Ascher ve arkadaşlarının (7) yöntemine göre yapıldı. Işık mikroskopisinde (Olympus model U-MDOB, Japan) × 400 büyütmede her kesitten rastgele 10 saha incelendi. Her sahadaki 100 hücreden bax (+), bcl-2 (+) ve kaspaz-9 (+) olanlar sayıldı. Toplam boyanan hücrelerin ortalama yüzdeleri alındı.

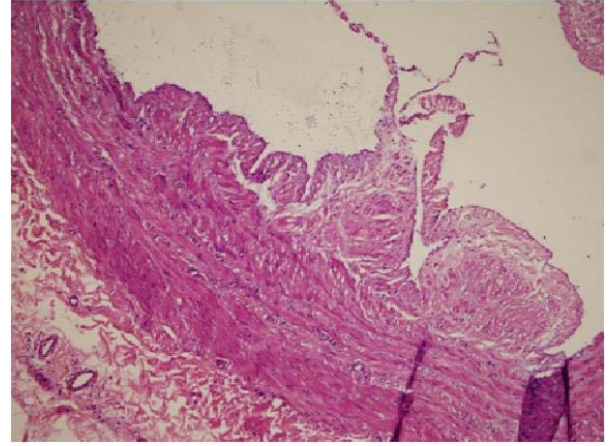
#### İstatiksel Analiz:

İstatistiksel değerlendirmeler için Statistical Programme Software System (SPSS) 15.0 programı kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama ± standart deviasyon olarak gösterildi. Gruplar arası farkın değerlendirilmesinde, "tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA)" ve Post Hoc test olarak "Tukey HSD (honestly significant difference) test" kullanıldı.  $p < 0.05$  olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.

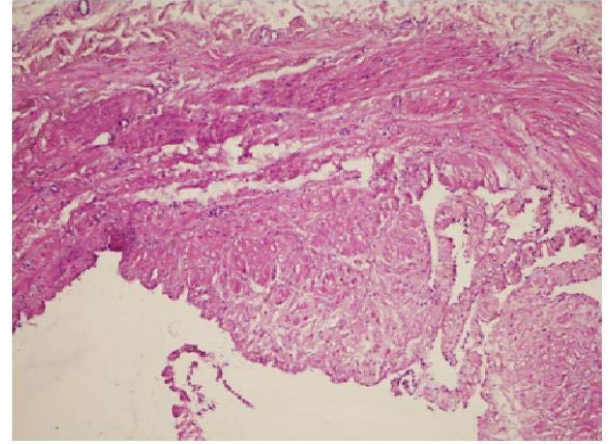
## BULGULAR

### Histomorfolojik Veriler

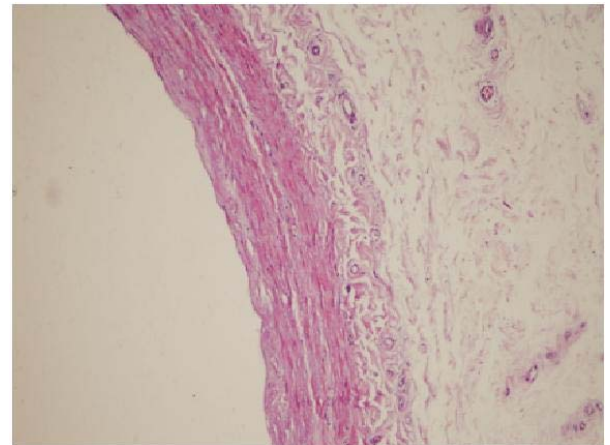
Kontrol ve papaverin grubunda ışık mikroskop incelemelerinde endotel düzensizliği, yer yer endotel kopmaları, yağlı hücreler ve intimada hiperplazik alanların bulunduğu vasküler yapı bozulması gözlemlendi (Resim 2A-2B). Verapamil ve nitrogliserin solüsyonlarıyla hazırlanan safen vende ise birbirine benzer görünümünün olduğu tunika intima, tunika medya ve adventisyanın doğal olarak izlendiği, minimal düzeyde endotel hücrelerinde kayıplar olduğu görüldü (Resim 3).



**Resim 2A.** Kontrol grubunda (Grup 1) yer alan ve heparinli serum fizyolojikle şişirilmiş safen ven (HEX200)



**Resim 2B.** Papaverin grubunda (grup 2) yer alan ve heparinli serum fizyolojikle şişirilmiş safen ven (HEX200)



**Resim 3.** Nitrogliserin grubunda (Grup 4) yer alan ve heparinli serum fizyolojikle şişirilmiş safen ven (HEX200)

Sonuç olarak verapamil ve nitrogliserin solüsyonları ile hazırlanan safen vende vasküler yapının minimal hasar da olsa korunduğu, ancak kontrol ve papaverin solüsyonları ile hazırlanan safen vende ise tüm tabakalarda yapısal bozukluklar olduğu ve aterosklerotik zemine doğru gidişin hızlı olduğu gözlemlendi.

## İmmunohistokimyasal Veriler

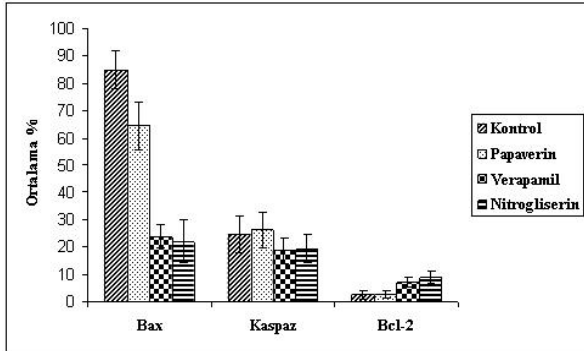
### Bax Boyanması:

Gruplardan elde edilen örneklerin bax ile pozitif boyanan hücreler ve ortalama hücre yüzdeleri Tablo 1 ve Grafik 1'de gösterilmiştir. Bax boyanan ortalama hücre, kontrol ve papaverin grubunda anlamlı olarak yüksek bulunurken ( $p < 0,005$ ), nitrogliserin ve verapamil grubunda ise çok daha az bulundu (Tablo 1). Sonuç olarak kontrol ve papaverin grubunda, nitrogliserin ve verapamil grubuna kıyasla çok daha fazla bax pozitif boyanan hücre tespit edildi ve anlamlı bulundu.

**Tablo 1.** 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
P = (I-II)	0,000	0,932	0,992
P = (I-III)	0,000	0,209	0,000
P = (I-IV)	0,000	0,317	0,000
P = (II-III)	0,000	0,066	0,000
P = (II-IV)	0,000	0,111	0,000
P = (III-IV)	0,960	0,994	0,270

\*Veriler Ortalama  $\pm$  Standart sapma olarak verilmiştir.



**Şekil 1.** Bax (+), Kaspaz (+) ve Bcl-2 (+) Hücrelerin Ortalama Yüzdeleri

### Bcl - 2 Boyanması:

Nitrogliserin ve verapamil grubundaki ven örneklerinde bcl-2 ile boyanan hücrelerin ortalamaları, kontrol ve papaverin grubuna oranla daha fazla pozitif boyanmış ve anlamlı ( $p < 0,005$ ) bulunmuştur (Tablo 1 ve Grafik 1).

### Kaspaz - 9 Boyanması:

Her dört grubun ven örneklerinin incelenmesinde hem kaspaz-9 (+) boyanan hücre sayısı hem de ortalama hücre yüzdelerinin fazla ve birbirine yakın sayısal sonuçlar olduğu görüldü. (Tablo 1 ve Grafik 1). Her dört grup arasında kaspaz immünreaktivitesi açısından anlamlı farklılık gösterilemedi.

## TARTIŞMA

Koroner bypass cerrahisinde, safen ven grefti hazırlanma aşamasında oluşan spazmın giderilmesi için heparinli serum fizyolojik solüsyonla mekanik distansiyon uygulanmaktadır. Safen ven hazırlanması sırasında basınçlı şişirme ve germenin safen vende endotel harabiyetine ve apoptoza neden olacağı gösterilmiştir (8).

Ven greftin erken dönem hasarlanmasındaki apoptotik süreçte, medial düz kas hücrelerinde önemli hasar oluşur. Bu hasarın temelinde ven greftin mediasında bulunan düz kas hücreleri, fibroblastlar ve inflamatuvar hücreler önemli rol oynar (9). Mekanik distansiyon, inflamasyon ve medial iskeminin fibrozise neden olduğu ve bu medial düz kas hücre yapılanmasının apoptozis ile birlikte olduğu tespit edilmiştir (10). Yapılan literatür çalışmalarında safen ven hazırlanması sırasında basınçlı şişirme ve germenin safen vende endotel harabiyetine ve apoptoza neden olacağı gösterilmiştir (9).

Galea ve ark. (11), insan safen veninin 350 mmHg basınçla 2 dakika süreyle şişirilmesi sonrası ortaya çıkan değişimleri değerlendirdikleri çalışmalarında ven duvarında apoptozis ve erken uyarılara karşı bir transkriptör faktör olan c-fos m-RNA protein düzeylerinin arttığını, hücre proliferasyonunun ise azaldığını tespit etmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada da insan safen ven grefti hazırlanması sırasında basınçla şişirme işleminin ven greftinin düz kas hücrelerinde bir mitojen-aktivatör protein kinaz olan p38 aktivasyonu arttırdığı ve beraberinde apoptozis geliştiği, bunun da safen ven yetmezliği oluşumuna katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (12). Şişirme basıncın 100 mmHg üzerinde tutulduğu uygulamalarda önemli derecede endotel hasarı olduğu, 100 mmHg altındaki uygulamalarda ise hasarın daha az olduğu belirlenmiştir (13). Biz de bu çalışmamızda mekanik distansiyon basıncını, bu çalışmamızda verileri doğrultusunda ortalama 100 mmHg dolayında tuttuk.

Jarzemowski ve ark. (14), safen venin implantasyon öncesi bekletildiği solüsyonun endotelial ve düz kas hücrelerinde apoptoza yol açtığını göstermişlerdir. Heparinli kan ve heparinli serum fizyolojik solüsyonda bekletilen venlerle yapılan çalışmada, kanda bekletilen venlerde serum fizyolojik gruba göre daha çok duvar kasılması ve endotel hücre kaybının meydana geldiği, serum fizyolojik gruba ise damar gevşemesinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir (15). Bu nedenle çalışmamızda grupları oluştururken serum fizyolojik solüsyonu tercih ettik (16). Hazırlama sırasında ortaya çıkan spazmı çözebilmek için çeşitli vazodilatatör ilaçlar kullanılmaktadır. Biz de ajanların en sık kullanılanlarından nitrogliserin, verapamil ve papaverin ile değişik hazırlama solüsyon grupları oluşturduk.

Apoptozis ile ilgili çalışmalarda, özellikle vasküler hücrelerin yaşama yeteneğinin moleküler düzeyde proapoptotik ve antiapoptotik sinyaller arasındaki denge ile belirlendiği gösterilmiştir. Bu olaylar bir takım gen familyaları aracılığı ile ve bunlardan en önemlisi bcl-2 familyasıdır. Bcl-2 familyası üyelerinden bcl-2 ve bcl-X<sub>L</sub> hücrelerin hayatta kalmalarını sağlar ve apoptozisi önlerken, bax ve kaspazın proapoptotik özelliklerinden dolayı hücrede apoptozisi ilerlettiği tespit edilmiştir (17). Bizim çalışmamızda da serum fizyolojik, papaverin, verapamil ve nitroglicerinin solüsyonları ile mekanik distansiyon uygulanan safen venlerde immunohistokimyasal olarak proapoptotik bax ve kaspaz, antiapoptotik bcl boyanan hücre yüzdeleri belirlendi. Serum fizyolojik ve papaverin gruplarında bax (+) boyanan hücreler en yüksek oranda iken (sırasıyla % 85.00 ve % 64.25), verapamil ve nitroglicerinin gruplarda ise bu değerler yaklaşık 3 kat daha az (sırasıyla % 23.75 ve %22.00) bulunmuştur. Verapamil ve nitroglicerinin grubunda elde edilen değerler kliğimizce daha önce gerçekleştirilmiş bir çalışmada normal safen venlerde elde edilen bax pozitif boyanan hücre yüzdelere (%22,13 ± 3,58) çok yakındı (18). Bcl-2 (+) boyanan hücre yüzdeleri ise serum fizyolojik ve papaverin grubunda düşük iken (sırasıyla % 2.5 ve % 2.75) verapamil ve nitroglicerinin grubunda yine yaklaşık 3 kat yüksek (sırasıyla % 7.25 ile % 8.88) saptanmıştır. Çalışmamızda serum fizyolojik içerisine papaverin ilavesinin bir koruma sağlamadığı ve apoptozisi indüklediği gösterilmiştir.

Baumann ve ark. (19), nonspesifik güçlü vazodilatör olan papaverin ile hazırlanan solüsyonla damar

duvarında yeterli relaksasyonun sağlandığını göstermişlerdir. Ancak Ruobos ve ark. (20), verapamil ve nitroglicerinin, serum fizyolojik ve papaverinle göre daha az endotel ve media hasarı oluşturduğunu kanıtlamışlardır. Roberts ve ark.(21) da papaverinle hazırlanan insan safen ven greftinde prostosiklinin azaldığı ve ciddi endotel hasarı olduğunu göstermişlerdir. Papaverinin pH 3-4 olacak şekilde asidik ortam oluşturduğu ve bu asidik ortamın endotelde hasar meydana getirdiği düşünülmektedir. Domuz koroner endotel hücreleri ve rat aortik düz kas hücreleriyle yapılan bir in vitro çalışmada, papaverin ile 1 saatlik inkubasyon sonrası hem düz kas hücreleri ve hem de endotel hücrelerinde TUNEL metoduyla boyanmış apoptotik hücre sayılarında belirgin artış gösterilmiştir (22). Karabulut ve ark. (13), serum fizyolojik içerisine nitroglicerinin ve verapamil eklenmesiyle safen vende intima ve media hasarının minimal olduğunu göstermiştir. He ve ark. (6), yaptıkları çalışmada nitroglicerinin ve verapamil ile insan safen veninde maksimuma yakın relaksasyon sağladıklarını, bu etkilerin hızlı ve uzun süreli olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak safen ven hazırlanması sırasında kullanılan verapamil ve nitroglicerinin solüsyonlarının hem endotel harabiyetini, hem de programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozis aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. Ancak tüm bunların yanında yaş, çevresel özellikler, hormonal ve genetik faktörlerin ven duvarı üzerindeki etkilerini göz ardı etmemek gerekir. Bu nedenle daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Falco E, Celoria G, Nardini A, Saccomanno G, De Franchi G, Zappia F. Femoropopliteal bypass with reversed saphenous vein. *Minerva Chir* 1995; 50; 883-8.
2. Bourassa MG, Camnipeau L, Lesperance J, Saltiel C, Grandin M. Changes in grafts and coronary arteries after coronary bypass surgery. *Cardiovasc Clin* 1991; 21; 83-100.
3. Fuchs JCA, Mitchener JS, Hagen PO. Postoperative changes in autologous vein grafts. *Ann Surg* 1978; 188; 1-15.
4. Cambria RP, Megerman J, Abbott WMM. Endothelial preservation in reversed and insitu autogenous vein grafts *Ann Surg* 1985; 202; 50-5.
5. Boerboom LE, Bonchek LI, Kissebah AH, Wemer PH, Pepper JR, Olinger GN et al. Effect of surgical trauma on tissue lipids in primate vein grafts: relation to plasma lipids. *Circulation* 1980; 62; 142-7.
6. He GW, Rosenfeldt FL, Angus JA. Pharmacological relaxation of the saphenous vein during harvesting for coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1993; 55; 1210-7.
7. 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; 1080-6.
8. Sotoudeh M, Li YS, Yajima N, Chang CC, Tsou TC, Wang Y, et al. Induction of apoptosis in vascular smooth muscle cells by mechanical stretch. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282; 1709-16.
9. O'Brien J, Michael L, Lambert L, Yi S, Dian W. Early injury to media after saphenous vein grafting. *Ann Thorac Surg* 1998; 65; 1273-8.
10. Rodriguez E, Erica H, Lambert BS, Michael G, John D. Contractile smooth muscle cell apoptosis early after saphenous vein grafting. *Ann Thorac Surg* 2000; 70; 1145-52.
11. Galea J, Armstrong J, Cooper G, Crossman DC, Francis SE, Holt CM. Alterations in c-fos expression, cell proliferation and apoptosis pressure distended human saphenous vein. *Cardiovascular Research* 1999; 44; 436-48.
12. Cornelissen J, Armstrong J, Holt CM. Mechanical stretch induces phosphorylation of p38 and apoptosis in human saphenous vein *Vasc Biol* 2004; 24; 451-6.
13. Karabulut H, Karabulut O, Arbak S, Şan T, Sokullu O, Korukçu A. Koroner bypass cerrahisinde kullanılan safen veninin hazırlanmasında endotel hasarı: Işık ve elektron mikroskopik inceleme *Türk Kardiyol Dern Arş* 1998; 26; 416-24.
14. Evans A, Silari P, Jarzembowski T, Navarro A, Zhang W, Benedetti E, et al. Effect of preservation media on cellular apoptosis in autologous saphenous vein grafts procured for coronary revascularization. *J Surg Res* 2004; 114; 222-55.

15. 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: 51-8.
16. Jesuthasan LSB, Angus JA, Rosenfeldt FL. In vitro comparison of glyceryl trinitrate-verapamil with other dilators of human saphenous vein. ANZ Journal of Surgery 2003; 73; 313-20.
17. Walsh K, Smith RC, Kim HS. Vascular Cell Apoptosis in Remodeling Restenosis, and Plaque Rupture. Circ Res 2000; 87; 184-8.
18. Özsin KK, Rahman A, Özeran İH, Burma O, Uysal A. The Role of Apoptosis in Lower Extremity Primary Varicose Veins. J Cardiovasc Sci 2008; 20; 184-91.
19. 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.
20. Ruobos N, Rosenfeldt FL, Richards SM, Conyers RA, Davis BB. Improved preservation of saphenous vein grafts by the use of glyceryl trinitrate-verapamil solution during harvesting. Circulation 1995; 92; 31-6.
21. Roberts AJ, Hay DA, Mehta JL, Mehta P, Roy L, Faro RS, et al. Biochemical and ultrastructural integrity of saphenous vein conduit during coronar artery bypass grafting. Preliminary results of the effect of papaverine. J Thorac Surgery Surg 1984; 88; 39-48.
22. Gao YJ, Stead S, Lee RM. Papaverine induces apoptosis in vascular endothelial and smooth muscle cells. Life Sci 2002; 70; 2675-85.

*Gönderilme Tarihi: 28.02.2012*