



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA ŞEHİR HASTANESİ
KALP DAMAR CERRAHİSİ KLİNİĞİ

**VASKÜLER GREFT KORUMA SOLÜSYONLARININ SOL İTERNAL
MAMMARİAN ARTERİN ENDOTEL BÜTÜNLÜĞÜNÜ VE
ELASTİKİYETİNİ KORUMA ÜZERİNE KISA DÖNEM ETKİLERİNİN
İN-VİTRO ORTAMDA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Muhammet Sefa SAĞLAM

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2022



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA ŞEHİR HASTANESİ
KALP DAMAR CERRAHİSİ KLİNİĞİ

**VASKÜLER GREFT KORUMA SOLÜSYONLARININ SOL İNTERNAL
MAMMARİAN ARTERİN ENDOTEL BÜTÜNLÜĞÜNÜ VE
ELASTİKİYETİNİ KORUMA ÜZERİNE KISA DÖNEM ETKİLERİNİN
İN-VİTRO ORTAMDA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Muhammet Sefa SAĞLAM

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Serdar GÜNAYDIN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2022

TEŞEKKÜR

2016 yılında büyük bir heyecanla Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi'nde başladığım, sonrasında Ankara Şehir Hastanesi'nde devam eden ve ömür boyu sürecek kalp ve damar cerrahisi eğitimime uzman hekim olarak devam edecek olmanın mutluluğunu ve gururunu hissetmekteyim.

Bu süreçte;

Eğitim yönünden, idari yönden ve hasta tedavisi açısından kliniğimizi en iyi konuma getirmek için büyük emekler veren başhekimimiz Prof. Dr. Mehmet Ali Özatik'e, idari sorumlumuz Prof. Dr. Şeref Alp Küçükler'e, eğitim sorumlumuz Prof. Dr. Ümit Kervan'a,

Tez yazım sürecimde ve eğitimimde büyük ilgi ve alaka gösteren, kalp cerrahisine olan bilimsel bakışını hayranlıkla örnek aldığım hocam Prof. Dr. Serdar Günaydın'a,

Eğitim sürem boyunca her zaman yanımda olan, mesleğimi sevdiren, kalp cerrahisinin ilkelerini öğreten, desteklerini ve bana olan güvenlerini her zaman arkamda hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Sadi Kaplan'a ve Prof. Dr. Erdal Şimşek'e,

Damar cerrahisi ile birlikte kalp cerrahisinin de inceliklerini öğreten, hasta takibindeki titizliğini örnek aldığım, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum saygıdeğer ağbeyim Doç. Dr. Soner Yavaş'a,

Hasta yaklaşımlarını ve cerrahi yaklaşımlarını görme, paha biçilemez bilgi ve tecrübelerinden faydalanma ve birlikte ameliyatlara girme şansı bulduğum kliniğimizin değerli hocaları Prof. Dr. Ahmet Sarıtaş'a, Prof. Dr. Erol Şener'e, Prof. Dr. C. Levent Birincioglu'na, Prof. Dr. Zeki Çatav'a, Prof. Dr. Kanat Özışık'a, Prof. Dr. Mahmut Ulaş'a ve Prof. Dr. Mete Hıdıroğlu'na,

Aynı klinikte çalışmaktan zevk aldığım ve her birinden çok değerli bilgiler edindiğim Doç. Dr. İlknur Günaydın'a, Doç. Dr. Okay Güven Karaca, Op. Dr. Seyhan Babaroğlu'na,

Eğitimim sırasında zaman zaman birlikte çalışma şansı bulduğum, bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen ve yardımcı olan, kendilerinden çok şeyler öğrendiğim ağbeylerim Doç. Dr. H. Zafer İşcan'a, Doç. Dr. Garip Altıntaş'a, Op. Dr. Göktan Aşkın'a, Doç. Dr. Levent Mavioğlu'na, Prof. Dr. E. Utku Ünal'a, Doç. Dr. Anıl Özen'e,

Kısa sürelerle olsa da birlikte çalışma fırsatım olduğu için çok mutlu olduğum, her zaman daha iyi olmam için yönlendiren ve bana her zaman samimiyetle yaklaşan abilerim Doç. Dr. S. Sabit Kocabeyoğlu'na, Doç. Dr. Doğan Emre Sert'e, Op. Dr. Mehmet Karahan'a, Op. Dr. Boğaçhan Akkaya'ya,

Yine birlikte çalışmaktan keyif duyduğum, özellikle tez yazım sürecinde gösterdikleri anlayış ve yardımları için Doç. Dr. Emrah Uğuz'a, Op. Dr. Fethi Sağlam'a, Op. Dr. Kemal Erdoğan'a, Op. Dr. Ünsal Erçelik'e,

Zaman zaman birlikte çalışma şansına eriştiğim, tecrübe edinmeme yardım eden ağbeylerim Op. Dr. Bahadır Aytekin'e, Op. Dr. Ferit Kasımcı'ya, Op. Dr. Emre Benli'ye,

Bu araştırmanın yapılışı sırasındaki yardımları için Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Dr. Öğretim Üyesi Esin Akbay'a ve Alp Yiğit Özdemir'e,

Eğitim sürecimin ilerleyen zamanlarında yollarımız ayrılrsa da verdikleri emekleri unutamayacağım Prof. Dr. Çetin Murat Songur ve Op. Dr. Tuğba Avcı'ya,

Kısa süre birlikte çalışma fırsatı bulsak da bana yol göstermeye, yardım etmeye ve desteklemeye devam eden değerli ağbeyim Doç. Dr. Ali Baran Budak'a,

Asistanlık sürecimde bana ortak ve yardımcı olan, kıdemliden ziyade arkadaş gibi yaklaşan, birlikte yorulup birlikte dinlendiğimiz ağbeylerim Op. Dr. Onur Karahasanoğlu'na, Op. Dr. Mehmet Alagöz'e ve Op. Dr. Serhat Aydaş'a,

Birlikte çalışmaktan çok keyif aldığım, uzun ve zorlu çalışma saatlerinde yükümü paylaşan, motive eden, yol arkadaşı olan Op. Dr. Hamdi Mehmet Özbek'e, Op. Dr. İsa Civelek'e, Dr. Ece Çelikten'e, Dr. Sabir Hasanzade'ye, Dr. Sinan Özçelik'e, Dr. Yunus Emre Ergin'e ve onların nezdinde tüm asistan hekim arkadaşlarıma,

Bu değerli mesleği öğrenirken birlikte çalıştığımız ve büyük emeklerine şahit olduğum hemşire arkadaşlarıma, anestezi ekibine, perfüzyonist arkadaşlara ve tüm hastane personeline,

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan öğretmenlerime, hekimliğin temelini, anlamını, değerini ve önemini öğreten Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi hocalarına,

Son olarak her durumda koşulsuz şartsız destekleyen ve yanımda olan, benimle birlikte sevinip birlikte üzülen, beni büyüten, yetiştiren ve eğiten değerli annem Naime Sağlam'a, babam Yavuz Sağlam'a ve kardeşlerime,

Sonsuz teşekkürler.

“Beni Türk hekimlerine emanet ediniz.” Gazi Mustafa Kemal Atatürk

Dr. M. Sefa Sağlam

Ankara / 2022

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TARİHÇE.....	3
2.1.1. Koroner Baypas Greftleme Cerrahisi Ve İma Kullanımının Tarihçesi	3
2.2. KORONER ARTER HASTALIĞI	4
2.3. KORONER ARTER BAYPAS CERRAHİSİ.....	5
2.4. KORONER BAYPAS GREFTLEME CERRAHİSİ SIRASINDA KULLANILAN GREFTLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	6
2.4.1. İnternal Mammaryan Arter	6
2.4.1.1. İMA'nın Histolojik ve Anatomik Yapısı	6
2.4.1.2. İMA'nın Koroner Baypas Greftleme Cerrahisi İçin Hazırlanması	8
2.4.2. Radial Arter.....	11
2.4.3. Gastroepiploik Arter	13
2.4.4. Büyük Safen Ven	13
2.4 ARTERİYEL GREFTLERİN VAZOMOTOR ÖZELLİKLERİ	15
2.4.1. Endotel Bağımlı Relaksasyon Ve Konstrüksiyon Faktörleri:.....	15
2.4.2. Vazokonstüktör Ajanlar Ve Arteriyel Greftlerde Vazospazm.....	16
2.5 GREFT KORUMA SOLÜSYONLARI	17
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	20
3.1. CERRAHİ TEKNİK.....	20
3.2. ÇALIŞMA VE DENEY PROTOKOLÜ	21
3.2.1 Organ Banyosu Deneyi Protokolü	21

3.2.2 Hematoksilen-Eozin Boyama ve CD31 Primer Antikor Boyama Protokolleri	22
3.3. VERİLERİN ANALİZİ	24
3.4. ÇIKAR ÇATIŞMASI	24
4. BULGULAR	25
4.1. DEMOGRAFİK VERİLER:	25
4.2. DENEY VE KONTROL GRUPLARI MAKSİMUM VAZOKONSTRÜKSİYON KARŞILAŞTIRILMASI	26
4.3. DENEY VE KONTROL GRUPLARI DOZ BAĞIMLI ENDOTEL BAĞIMSIZ RELAKSASYON KARŞILAŞTIRILMASI	27
4.4. DENEY VE KONTROL GRUPLARININ ENDOTEL KALINLIKLARININ KARŞILAŞTIRILMASI	28
4.5. DENEY VE KONTROL GRUPLARI ÖRNEKLERİN CD-31 YÜZEY ANTİJENLERİNİN İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA İLE TESPİTİ	30
5. TARTIŞMA	33
5.1 ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI	36
6. SONUÇ	37
7. KAYNAKLAR	38
8. ÖZGEÇMİŞ	44
9. EKLER	46
9.1 EK-1 TEZ KONUSU ONAY FORMU	46
9.2 EK-2 ETİK KURUL ONAYI	49

KISALTMALAR

cAMP	:	Siklik Adenozin Monofosfat
CD-31	:	Cluster of Differentiation 31
cGMP	:	Siklik Guanozin Monofosfat
EBRF	:	Endotel Bağımlı Relaksasyon Faktörü
ESC/EACTS	:	European Society of Cardiology / European Association for Cardio-Thoracic Surgery
HTK	:	Histidin-Triptofan-Ketoglutarat
İMA	:	İnternal Mammaryan Arter
KABG	:	Koroner Arter Baypas Greftleme
KPB	:	Kardiyopulmoner Baypas
LAD	:	Sol Ön İnen Arter
LİMA	:	Sol İnternal Mammaryan Arter
NO	:	Nitrik Oksit
PECAM-1	:	Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule
PGI₂	:	Prostasiklin
VSM	:	Vena Saphena Magna, Büyük Safen Ven
WUS	:	Wisconsin University Solution

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1:	Vazospazm ile ilişkili vazokonstrüktör ajanlar.....	16
Tablo 2.2:	Tiprotec, HTK ve salin solüsyonlarının içeriklerinin karşılaştırılması.....	19
Tablo 4.1:	Araştırmaya dahil edilen hastaların bazı tanımlayıcı özellikleri ve dağılımı.....	25
Tablo 4.2:	Kontrol ve deney grubu örneklerin vazokonstrüksiyon ve relaksasyon yanıtlarının istatistiksel analizi.....	28

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1:	İMA proksimal kesiminden bir kesit, multiple elastik flamanlar görünmekte.....	7
Şekil 2.2:	İMA'nın bölgelere göre kontraktilite farklılığı ve kaslar regülatör bölgelerin şemalaştırılmış hali.....	9
Şekil 2.3:	Diseksiyonu tamamlanmış örnek internal mammarian arter grefti.....	10
Şekil 2.4:	İskeletize olarak hazırlanmış İMA greftinin operasyon sırasında saklanma yöntemleri.....	11
Şekil 2.5:	Radial arterin konumu ve insizyon trasesi.....	12
Şekil 2.6:	VSM trasesi, tünelli ve açık cerrahi teknik.....	14
Şekil 2.7:	Greft endoteli ve mediadaki kas dokusu arasındaki vazomotor ilişkilerin şematik gösterimi.....	16
Şekil 3.1:	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarı'nda örnek deney düzeneği.....	22
Şekil 3.2:	BSL Analysis 4.1 örnek ekran görüntüsü.....	24
Şekil 4.1:	Deney ve kontrol grupları maksimum vazokonstriksiyon karşılaştırması.....	26
Şekil 4.2:	Deney ve kontrol gruplarının relaksasyon yanıtları.....	27
Şekil 4.3:	Deney ve kontrol gruplarının yüzde cinsinden maksimum relaksasyon karşılaştırması.....	28
Şekil 4.4:	Deney ve kontrol grubu kesitlerin endotel kalınlığı açısından karşılaştırılması.....	29
Şekil 4.5:	Kontrol grubu kesitin hematoxilen eozin boyaması ile görünümü....	29
Şekil 4.6:	Deney grubu kesitin hematoxilen eozin boyaması ile görünümü.....	30
Şekil 4.7:	Deney ve kontrol gruplarında CD-31 pozitif boyanan hücre sayılarının karşılaştırılması.....	31
Şekil 4.8:	Kontrol grubu kesitin CD-31 immünohistokimyasal boyama görüntüsü.....	32
Şekil 4.9:	Deney grubu kesitin CD-31 immünohistokimyasal boyama görüntüsü.	32

ÖZET

Amaç: Günümüzde açık kalp cerrahisinin en sık uygulanan ameliyatı olan koroner arter baypas greftleme ameliyatının kısa ve uzun dönem başarısı için dikkat edilmesi gereken en temel noktalardan birisi greft kalitesidir. Çalışmamızda en sık kullanılan greft olan sol internal mammaryan arter greftinin kalitesini artırabilecek bir yöntem değişikliğinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 22 hastadan alınan greft örnekleri rutin kullanılan vazodilatör eklenmiş salin solüsyonu ve kolloid ağırlıklı hazır bir ticari preparat olan Tiprotec (Dr Köhler Chemie, Bensheim, Almanya) solüsyonunda saklanmış ve organ banyosu düzeneğinde vazokonstrüksiyon ve vazorelaksasyon cevapları kayıt altına alınmıştır. Ek olarak örneklerden alınan kesitler direkt boyama ve immünohistokimyasal boyama ile de incelenmiştir.

Bulgular: Alınan 22 örnek kontrol ve deney grupları olarak ikiye parçaya ayrılmış, bu grupların sonuçları birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Yapılan karşılaştırmada örneklerin maksimum vazokonstrüksiyon oranı kontrol ve deney grubunda sırasıyla %52.85 ve %60.04 olarak saptanmış ve istatistiksel olarak anlamsız bulunmuş, ($p=0,332$) maksimum vazokonstrüksiyon sonrası dinlenim gerimine dönüşünde kontrol ve deney grupları örneklerde sırasıyla %9.78 ve %27.50 olarak, kontrol ve deney grupları maksimum relaksasyon oranı ise sırasıyla %12,62 ve %23,38 olarak saptanmış ve bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı sonuç olarak ($p=0,001$, $p=0.006$) yorumlanmıştır. Yapılan hemotoksilen eozin boyamasında kontrol grubu örneklerin endotel kalınlıkları ortalama 6,82 mikrometre deney grubu örneklerin ortalama endotel kalınlıkları 8,23 mikrometre olarak hesaplanmıştır ($p=0,004964$). CD-31 immünohistokimyasal boyama sonucunda ise kontrol grubu örneklerde 71, 57 ve 46 adet, deney grubu örneklerde ise sırasıyla 93, 75 ve 52 adet CD-31 pozitif boyanan hücre tespit edilmiştir ($p=0,043$).

Sonuç: Çalışmamızda yaptığımız kontrol ve deney grupları arasındaki karşılaştırmada arteriyel bir greft örneğinin maruz bırakılan solüsyonun içeriğine göre farklı düzeylerde vazomotor fonksiyonlar ve endotel hasarı görüldüğü, kristaloid solüsyonların venöz greftler gibi arteriyel greftlerde de daha düşük düzeyde koruma sağladığı tespit edilmiştir. Bu bulgular saklama solüsyonlarının greftlerin uzun dönem patensisinde anlamlı derecede etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Ancak bu tezin in vitro çalışmanın kısıtlılıkları nedeniyle daha fazla sayıda örnek ile yapılan çalışmalarla ve in vivo çalışmalarla desteklenmesi gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Greft koruma solüsyonları, İnternal mammaryan arter grefti, Vazomotor fonksiyon analizi, Tiprotec

ABSTRACT

Aim: Graft quality is one of the most important points to be considered for the short and long-term success of coronary artery bypass grafting, which is the most frequently performed operation in open heart surgery today. In our study, we aimed to examine a method change that can improve the quality of the left internal mammarian artery graft, which is the most commonly used graft.

Materials and Methods: In our study, we compared graft samples taken from 22 patients stored in a routinely used vasodilator added saline solution and a commercial colloid-weighted commercial preparation, Tiprotec (Dr Köhler Chemie, Bensheim, Germany), and their vasoconstriction and vasorelaxation responses were recorded in the organ bath setup. In addition, cross-sections taken from the samples were also examined by direct staining and immunohistochemical staining.

Results: 22 samples were allocated into two groups as control and experimental specimens and the results of these groups were compared with each other. In the comparison, the maximum vasoconstriction rate of the samples was found to be 52.85% and 60.04% in the control and experimental groups, respectively, and it was found to be statistically insignificant ($p=0.332$). In the return to resting tension after maximum vasoconstriction, the control and experimental groups were 9.78% and 27.50%, respectively, in the control and experimental groups. The maximum relaxation rate of the experimental groups was determined as 12.62% and 23.38%, respectively, and these results were interpreted as statistically significant ($p=0.001$, $p=0.006$). In the hematoxylin-eosin staining, the average endothelial thickness of the control group samples was 6.82 micrometers, and the average endothelial thickness of the experimental group samples was calculated as 8.23 micrometers ($p=0.004964$). As a result of CD-31 immunohistochemical staining, 71, 57 and 46 cells were detected in the control group samples, and 93, 75 and 52 CD-31 positive cells were detected in the experimental group samples, respectively ($p=0.043$).

Conclusion: In the comparison between the control and experimental groups in our study, it was determined that an arterial graft sample showed different levels of vasomotor functions and endothelial damage according to the content of the exposed solution, and that crystalloid solutions provided a lower level of protection in arterial grafts like venous grafts. Our findings demonstrated that graft protection solutions have a significant impact in the long-term patency. However, this thesis needs to be supported by studies with more samples and in vivo studies due to the limitations of in vitro studies.

Keywords: Graft preservation solutions, Internal mammarian artery graft, Vasomotor function analysis, Tiprotec

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp cerrahisi, dünyada ve ülkemizde devamlı olarak yeni uygulamaların gündeme geldiği ve uygulandığı bir bilim dalıdır. Kalp cerrahileri içinde en sık uygulanan koroner baypas greftleme cerrahisi (KABG) dünya çapında yılda bir milyondan fazla sayıda yapılmaktadır(1). KABG, her detayı çok sayıda çalışmaya konu olmuş ve hala mükemmelleştirilmesi için çalışmaların çok sık ve özenle yapıldığı bir ameliyattır. KABG'nin uygulanmaya başlandığı 1960'lı yıllardan itibaren kullanılacak en uygun greft seçimi ve bu grefti doğru koruma yöntemleri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda hangi greftlerin açıklık ve başarı oranının daha yüksek olduğu, hangi damara yapılan baypaslarda hangi greftlerin daha başarılı olduğu, greftlerin nasıl hazırlanacağı ve nasıl saklanacağı gibi konular araştırılmaktadır.

Her KABG ameliyatında en az bir, ancak sıklıkla daha fazla sayıda damar grefti kullanılmaktadır. Bu greftler çeşitli cerrahi tekniklerle hazırlandıktan sonra sıklıkla kanülasyon, kardiyopulmoner baypas (KPB), kros-klempleme, arteriotomi işlemleri sırasında greftler bekletilmekte ve sonrasında kullanılmaktadır. Greft seçiminde ilk zamanlarda cerrahi olarak kolay ulaşımı sebebiyle öncelikle safen ven grefti kullanılsa da daha sonraki yıllarda internal mammaryan arter (İMA) açıklığının özellikle sol ön inen arter (LAD) baypaslarında safen ven greftine üstünlüğü görülmesi üzerine rutin olarak kullanılmaya başlanmıştır(2). Greft seçiminde hastanın yaşı, klinik durumu, baypas yapılacak koroner damarlar, hastada greft olarak kullanılacak damarın durumu, özellikleri, operasyonun yapıldığı merkez ve cerrahın tecrübesi gibi çok sayıda faktör göz önüne alınmaktadır.

Arteriyel greftlerin kalbin kanlanma ihtiyacının daha çok olduğu KPB sonrasında spazma yatkın olması nedeniyle greft açıklığının ve spazmın önlenmesi için greft koruma ve vazodilatasyon yöntemleri araştırılmıştır. Bu amaçla İMA kullanımının öncülerinden olan Green, papaverin solüsyonunun kullanımını önermiştir(3). Hipotansiyon etkisi nedeniyle intravenöz kullanımdan ziyade topikal olarak kullanılan papaverin solüsyonuna ek olarak nitrogliserin, verapamil, diltiazem gibi vazodilatör ilaçların da kullanımı araştırılmıştır(4,5). Çoğunlukla in situ kullanılan İMA greftinde nitrogliserin, verapamil ve diltiazem gibi ilaçların topikal etkisinin yetersiz olduğu, papaverinin ise yüksek konsantrasyonlarda apoptoza yol açtığı gösterilmiştir (6). Papaverin yerine alternatif olarak farklı vazodilatör ajanlar araştırılsa da yaygın kullanıma ulaşmamıştır(7).

Serbest kullanılan safen ven greftinin korumasını sağlamak üzere kullanmak için geçmişte ve günümüzde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Vasküler greft koruyucu solüsyonlarının endotel bütünlüğünün ve vasküler tonusun korunmasında geleneksel olarak kullanılan salin solüsyonuna (%0,9 NaCl) göre daha başarılı olduğu yurtdışında

yapılan in-vivo ve in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir(1). Ancak KABG cerrahisi sırasında altın standart greft olarak in situ kullanılan otojen İMA greftinin endotel bütünlüğünün ve vasküler tonusunu koruması konusunda etkili olup olmadığı insan greftleri üzerinde gösterilmemiştir.

KABG operasyonlarında en sık kullanılan ve cerrahi için hazırlanması sonrası İMA greftinin kısa dönemde spazma yatkınlığı sebebiyle intraoperatif ve erken postoperatif dönemde görülen komplikasyonların sıklığının azalmasını sağlamak için İMA greftinin hazırlanma ve bekletilme koşulları önem arzetmektedir.

Çalışmamızın amacı potasyum zenginleştirilmiş içerikli ve kolloid ağırlıklı bir vasküler greft koruyucu solüsyonun İMA grefti üzerindeki etkisini in vitro ortamda gösterilmesidir. Bu alışma ile ileride yapılacak hayvan deneyleri ve in vivo çalışmalar için hazırlık yapılması planlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

2.1.1. Koroner Baypas Greftleme Cerrahisi Ve İma Kullanımının Tarihçesi

20. yüzyıl başlarında anjina pektorisin daha iyi tanınması ve anlaşılması sonrasında bu konuda cerrahi seçenekler araştırılmaya başlanmıştı. Yapılan ilk cerrahi tedaviler revaskülarizasyon değil, ağrıyı rahatlatmaya yönelikti. Thomas Jonesco tarafından 1916 yılında yapılan cerrahi sempatektomi yoluyla anjina giderilmesi yapılan ilk cerrahi işlemdi. Takibinde 1930'lu yıllarda ötiroid hastalarda tiroidektomi yaparak metabolizmayı ve kalbin iş gücünü azaltmak anjinası olan hastalarda uygulanmış cerrahilerdendir(8).

1880'de Ludwig Langer'in yaptığı, koroner kollateral dolaşımı gösteren çalışmalara binaen koroner revaskülarizasyonun çevre dokular ile sağlanması üzerine çalışılmış, Moritz ve arkadaşlarının yaptığı ekstrakardiyak yaklaşımlar bu konuda yapılan ilk ameliyatlar olmuştur(9).

1939'da Davide Fieschi tarafından yapılan bilateral İMA ligasyonunu da bu konuda dikkat çeken girişimlerden olsa da takibinde yapılan çalışmalar bu ameliyatın anjina pektoris tedavisinde etkili olmadığını göstermiştir(10).

Miyokardiyal kan akımını artırmaya yönelik en dikkat çekici olan çalışmalardan, daha sonra Arthur Vineberg'in kendi adıyla anılan operasyon, LİMA sol ventrikül duvarına arter anastomozu yapılmadan transplante edilmesidir. Operasyonun amacı İMA ile LAD arasında kolletaralizasyonun oluşmasını sağlamaktır.(11) 2003 yılında, 31 yıl önce Vineberg prosedürü yapılmış bir hastada LAD'nin tıkalı olduğu ancak İMA akımının mevcut olduğu ve distal LAD ile diagonal arterlerde güçlü dolum olduğu görülmüştür(12).

1958 yılında F. Mason Sones'in gayriihtiyari şekilde koroner anjiyografiyi keşfetmesi ve bu görüntülemenin koroner arter hastalığının objektif olarak tespiti için altın standart haline gelmesini takiben KABG cerrahisi ve koroner girişimler konusundaki çalışmalar hız kazanmıştır.

1961 yılında Goetz ve arkadaşları tantalum ring ile sağ koroner artere İMA kullanarak ilk KABG cerrahisini gerçekleştirmişlerdir(13). 1964 yılında Kolesov sağ İMA kullanarak sağ koroner artere ilk defa dikişler ile anastomoz uygulamasını yapmışlardır. Sabiston'un safen ven grefti ile sağ koroner arter baypası, Garrett ve Deakey'nin yine safen ven grefti ile LAD baypaslarını takiben KABG daha sık yapılmaya başlamış ve hız kazanmış, LİMA-LAD baypası ise 1968'de Green ve arkadaşları tarafından ilk defa uygulanmıştır.

1972 yılında İtalyan cerrah Favaloro ve ekibi tarafından ilk büyük KABG serisi yayınlanmıştır(8). Bu seride opere edilen 951 hastada görülen %4,2'lik mortalite oranı KABG cerrahisine olan güvenin artmasını sağlamıştır.

1985 ve 1986 yıllarında yayınlanan Loop, Lytle ve arkadaşlarının çalışmalarında LİMA greftleri ile baypasların safen ven grefti ile yapılan baypaslara üstünlükleri net olarak gösterilmiş,(14,15) bu tarihten sonra KABG'de LİMA tercihi artmış, 1988 yılında %31 olan LİMA kullanımı 2000 yılında %88'e, 2010 yılında %95'e ulaşmıştır(16). 2018 yılında yayınlanan ESC/EACTS (European Society of Cardiology/European Association for Cardio-Thoracic Surgery) miyokardiyal revaskülarizasyon rehberinde LAD pozisyonunda İMA kullanımı sınıf 1 kanıt düzeyi B öneri olarak yer almaktadır(17).

Günümüzde altın standart olarak kullanılan İMA greftinin kalitesinin ve uzun dönem açıklığını artırmaya yönelik çalışmalar devam etmektedir. Bu tekniklerden birisi olan iskeletize İMA kullanımı ilk olarak Cunningham ve arkadaşları tarafından 1992 yılında tanımlanmış(18) , sonraki yıllarda bu şekilde kullanım hakkında daha kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. 2018 ESC/EACTS miyokardiyal revaskülarizasyon rehberinde iskeletize İMA kullanımı sternal enfeksiyon riski yüksek hastalarda kanıt düzeyi sınıf 1 ve kanıt düzeyi B olarak tavsiye edilmektedir(17).

2.2. KORONER ARTER HASTALIĞI

Koroner arter hastalığı, kalbi besleyen arterlerde lipid içerikli plaklar nedeniyle duvar kalınlaşması ve elastikiyet kaybı ile seyreden aterosklerozun neden olduğu, miyokarda kan akışını sağlayan koroner arterlerin lümen çaplarının daralması sonucu oluşan durumdur (19). Yeterli kan akımının sağlanamaması nedeniyle doku perfüzyonu bozulur, dokulara oksijen sunumunda azalma olur ve miyokardiyal iskemi gelişir. Koroner arter hastalığı, anjina pectoris ve akut koroner sendromun en yaygın nedenidir.

Ateroskleroz, diğer kan damarlarında olduğu gibi koroner arterlerde de intima ve media tabakalarında lipidlerin, kompleks karbonhidratların, kan ve kan ürünlerinin, fibröz doku ve kalsiyumun fokal birikimleriyle ilişkili olan bir süreçtir. Aterosklerotik plaklar, arterin lümenini aşacak kadar kalınlaşarak stenotik bir lezyon oluşturabilir. Muhtemelen epizodik olarak ve bazen yıllar içinde, plağın luminal tarafında yeni materyal birikir, bu da daha fazla daralmaya ve bazen tam koroner oklüzyona neden olur. Zamanla plak çevresinde ve içinde küçük kan damarları oluşur. Klinik olarak nadiren görülen stenozların gerilemesi, kollateral koroner kan akışının gelişmesi, antegrad bölgesel miyokardiyal kan akışının en azından kısmi spontan restorasyonu ile sonuçlanabilir.(20)

Koroner arter hastalığı, dünyadaki en sık ölüm nedeni olan kardiyovasküler hastalıklar içerisinde yer alır. Amerika Birleşik Devletleri'nde ise erkek ve kadınlarda

en sık ölüm sebebi koroner arter hastalığıdır (21). Her ne kadar son yıllarda gelişen tedavi nedeniyle ölüm oranları azalsa da 35 yaş üstü erkek ve kadın ölümlerinin üçte birinden koroner arter hastalığı sorumludur (22). Ülkemizde de iskemik kalp hastalıkları en sık ölüm nedenidir. 2016 yılında Türkiye’de iskemik kalp hastalıklarının yıllık ekonomik maliyeti 5,9 milyar dolar olarak hesaplanmıştır(23).

Koroner arter hastalığının risk faktörleri yaş, aile öyküsü, erkek cinsiyet (değiştirilemeyen faktörler), diyabetes mellitus, hipertansiyon, tütün kullanımı, hiperkolesterolemi, düşük HDL (high density lipoprotein), obezite, hareketsiz yaşam olarak sayılabilir (24).

Koroner arter hastalığının ilk bulgusu sıklıkla eforla olan göğüs ağrısıdır. Miyokardın oksijen ihtiyacının arttığı durumlarda ortaya çıkan bu ağrıya stabil anjina pectoris denir. Daha ilerlemiş darlık, tromboz, plak rüptürü gibi nedenlerden ötürü istirahat halinde dahi ortaya çıkan ağrı ise stabil olmayan (anstabıl) anjina pectoris olarak tanımlanmaktadır. Akut olarak gerçekleşen plak rüptürü, tromboz gibi durumlar nedeniyle miyokard nekrozu oluşması ise miyokardiyal enfarktüs olarak tanımlanır. Miyokardiyal enfarktüs veya yaygın iskemiye bağlı olarak miyokardiyal disfonksiyonun oluşması sonucunda kalp yetmezliği, aritmiler görülebilir, bu olaylar ani kardiyak ölüme neden olabilir (20).

Koroner arter hastalığı tedavisinde yaşam tarzı değişiklikleri, medikal tedaviler, girişimsel tedaviler ve KABG cerrahisi tedavisi yer almaktadır. 2018 ESC/EACTS miyokardiyal revaskülarizasyon rehberinde stabil koroner arter hastalığında proksimal LAD lezyonu olan tek damar ve iki damar hastalığı olan hastalar için, sol ana koroner arter hastalığı olan hastalar için ve diyabet olan ve olmayan üç damar hastalığı mevcut hastalar için güçlü öneri düzeyinde KABG önerilmektedir.

2.3. KORONER ARTER BAYPAS CERRAHİSİ

Yalnızca 60 yıllık geçmişi olmasına rağmen KABG yıllar içerisinde devamlı olarak geliştirilmiş ve günümüzde gelişimine devam etmektedir. Yıllar içerisinde yapılan KABG ameliyatlarının sayısı azalsa da Amerikan Kalp Derneği’nin (AHA) 2021 yılında yayınlanan Kalp Hastalıkları ve İnme İstatistikleri’ne göre Amerika Birleşik Devletleri’nde yıllık 371.000 KABG cerrahisi yapılmaktadır (25).

Standart KABG cerrahisi median sternotomi ile yapılır. Orta hatta, kas yapılarına zarar vermeden yapılan sternum kesisini takiben LİMA grefti toraks duvarındaki dallarından ayrılarak serbestlenir. Greftin uç kısmı ayrılmadan greft kullanılabildiği kadar lümenin tromboze olmaması için heparin uygulanmalıdır. Cerrah ve hasta tercihine, greft seçimine göre sağ İMA da ikinci greft olarak hazırlanabilir. Eş zamanlı olarak, mümkün ve ihtiyaç var ise diğer greftler (radial arter grefti, safen ven grefti) hazırlanır. Perikardiyotomi yapılması sonrasında aort ve kalp muayene edilir, planlanan cerrahi

strateji tekrar gözden geçirilir. KPB ile operasyon yapılması planlanıyorsa KPB sırasında kanı vena cava inferior ve vena cava superiorından veya sağ atriumdan alıp kardiyopulmoner baypas pompasına, oradan da aorta ulaştırmak üzere uygun kanüller yerleştirilir, hatlar kalp-akciğer pompasına bağlanır. KPB başlatıldıktan sonra immobil bir alan elde etmek için birçok cerrah kros-klemp, miyokardiyal koruma solüsyonları, sistemik hipotermi ve topikal soğuk uygulama yolları ile kardiyak arrest sağlandıktan sonra koroner arter anastomozlarını uygulayarak KABG cerrahisini gerçekleştirmektedirler. Pozisyon nedeniyle genellikle en son olarak yapılan anastomoz sol ön inen arter (LAD)- sol internal mammaryan arter (LİMA) anastomozu olduğu için İMA grefti yapılan anastomoz sayısına göre genellikle 60-120 dakika arasında serbest olarak bekletilir. Anastomozların tamamlanması sonrasında x klemp açılır, kalbin tekrar sıcak kan ile beslenmesi sağlanır, bu arada kullanılan İMA greftinin de oklüzyonu kaldırılarak greft ve anastomoz distalinin beslenmesi başlar. Kardiyak ritmin tekrar başlamasını takiben hemodinamik parametreler göz önüne alınarak KPB sonlandırılır. Dekanülasyon ve kanama kontrolü işlemlerinin ardından sternum uygun kapama yöntemi ile birleştirildikten sonra cilt altı ve cilt dokuları kapatılarak operasyona son verilir.

2.4. KORONER BAYPAS GREFTLEME CERRAHİSİ SIRASINDA KULLANILAN GREFTLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER

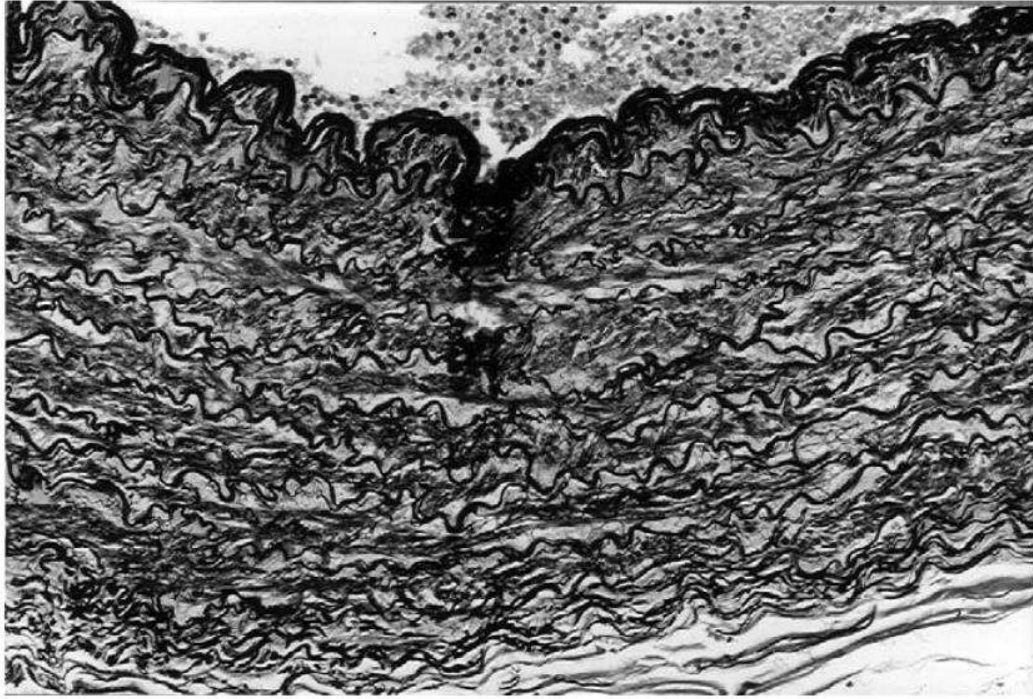
2.4.1. İnternal Mammaryan Arter

İMA, arteriyel greftler arasında en çok kullanılan ve uzun dönem sonuçları en iyi bilinen grefttir. Hem hayatta kalma, hem de semptomların kontrol altına alınması konusunda ven greftlerine olan üstünlüğü yapılan çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir (14,15).

2.4.1.1. İMA'nın Histolojik ve Anatomik Yapısı

İMA, histolojik sınıflandırmaya göre küçük çaplı bir arterdir. Histolojik olarak kalın bir internal elastik lamina mevcuttur (Şekil 2.1)(26). Bunun üzerinde subendotelyal substrat, bazal lamina ve damar endoteli yer alır. İMA'nın histolojik yapısı sayesinde ateroskleroz çok nadir görünür (27).

Yapı olarak somatik bir kondüit olan İMA'nın proksimal ve distal kısımların farmakolojik olarak daha reaktiftir. Bu özellik somatik arterlerde ilgili organın kanlanmasının ayarlanması için önem taşımaktadır.



Şekil 2.1: İMA proksimal kesiminden bir kesit, çok sayıda elastik flamanlar görünmekte

İMA, subklavian arterin dalıdır. *Turuncus thyriocervicalis*'in karşı tarafından çıkar. KABG ameliyatlarında sık kullanılan sol İMA subklavian arterden ayrıldıktan sonra brakioyosefalik venin arkasında, anterior skalen kasın medialinde kalarak toraksa girer. Toraksta önce inferior ve mediale doğru ilerleyerek frenik sinir ile çapraz yapar. Bu çaprazla dikkat edilmesi, KABG öncesinde İMA hazırlanması sırasında oldukça önem taşır. Frenik sinir hasarında görülmesi muhtemel diyafram elevasyonu postoperatif dönemde önemli bir morbidite nedenidir.

İMA distale doğru ilerledikçe sternum dış kenarının 1-2 cm lateralinde, paralel olarak inferiora doğru, interkostal kaslar ve kostalar ile endotorasik fasya arasında seyreder. İlk altı interkostal arter anteriorda İMA'dan köken alır. Bu dallar sternumun beslenmesinde önemli rol sahibidir. Seyir sırasında anterior kutanöz dalları da vererek toraks duvarının dış yüzeyinin beslenmesine de katkı sağlar. İMA, altıncı interkostal arter dalını verdikten sonra terminal dallarına ayrılır. Süperior epigastrik arter abdomen ön duvarında seyrine devam eder, abdomen ön duvarında inferior epigastrik arter dalları ile anastomozlar yapar. Bu anastomozlar periferik arter hastalığı olan hastalarda büyük önem taşımaktadır. Muskülofrenik arter ise diyaframı geçerek daha alt seviyedeki interkostal arter dallarını verir. Posterior interkostal arterler ile anterior dallar karşılıklı anastomozlar yapar.

İMA, kalp cerrahisinin son 30 yılında en sık ve en uzun ömürlü olduğu kanıtlanan greft olarak kullanılmaktadır. Hlatky ve arkadaşlarının 2014 yılında

yayınladıkları çalışmaya göre 2008 yılı itibariyle Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan KABG vakalarının yüzde 91'inde İMA grefti kullanılmaktadır (16). Bu oranın günümüzde daha yüksek olduğu tahmin edilebilir.

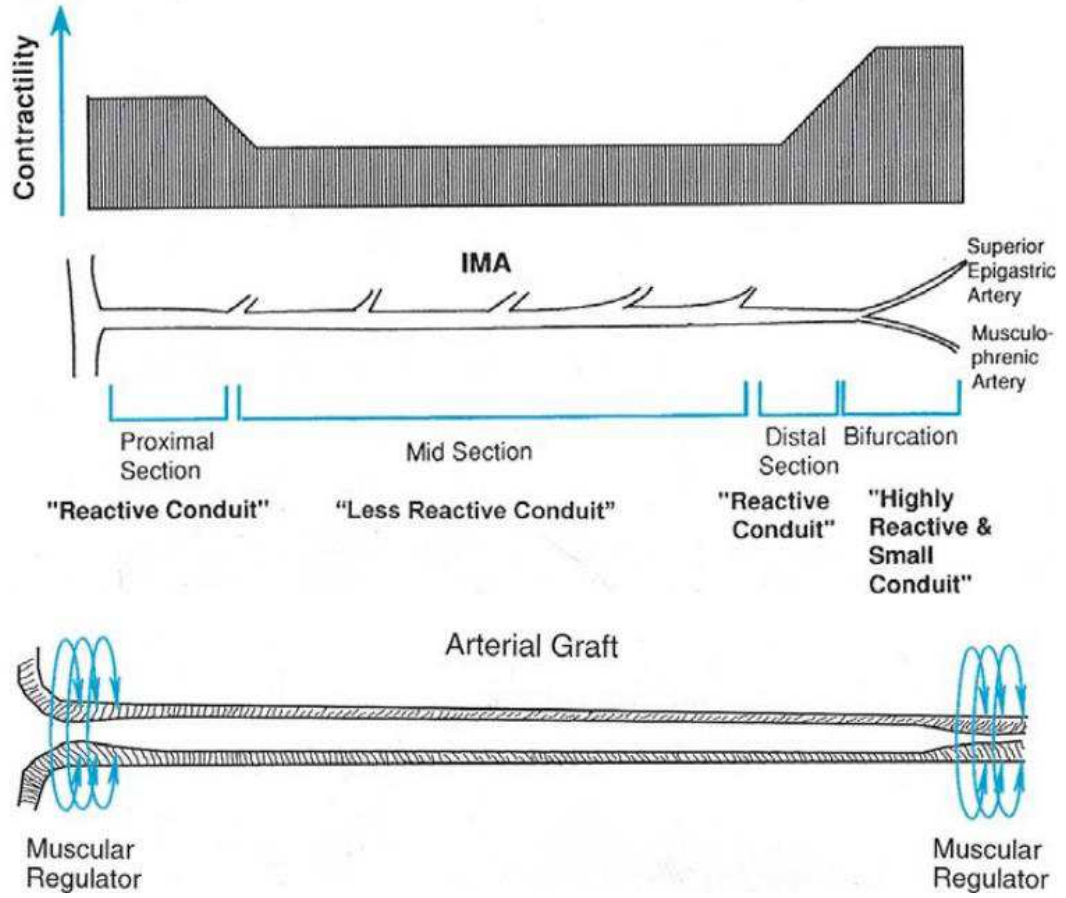
2.4.1.2. İMA'nın Koroner Baypas Greftleme Cerrahisi İçin Hazırlanması

KABG, son yıllarda minimal invaziv kesiler ile yapılabilse de günümüzde en sık standart yöntem olan median sternotomi ile yapılmaktadır.

Cilt ve cilt altı insizyonu takiben median sternotomi yapılır. Elektrokoter ile hemostaz sağlandıktan sonra sternum asimetrik özel ekartör ile açılır ve toraks duvarı göz hizasına gelecek şekilde operasyon masası yükseltilir. Bu aşamada toraks duvarının aşırı traksiyonu aksiller plexus hasarına sebep olabileceği ve kosta fraktürleri postoperatif dönemde ağrıya neden olabileceğinden aşırı traksiyondan kaçınılmalıdır. Sternum dış kenarı hizasında, İMA'nın medialinde ve İMA'ya paralel olacak şekilde, endotorasik fasyada düşük güçte elektrokoter ile kesi yapılır. Bu kesi damarın uzunluğu boyunca, 6. interkostal aralığa kadar uzatılır. Diseksiyona genellikle 6. interkostal aralıktan başlanır. Elektrokoter bıçağının ucu akımsız şekilde kullanılarak pedikül kostalardan ayrılır. Pedikül penset yardımıyla hafifçe çekilerek interkostal aralıklarda arter dalları yine elektrokoter bıçağının ucu ile akımsız şekilde izole edilir ve bu dallar küçük metal klipler ile oklüde edilir ve distal uçtan ayrılır. Pedikülün aşırı traksiyonuna dikkat edilmelidir, aşırı traksiyon sırasında interkostal dallar kopabilir, İMA endoteli disseke olabilir. Bu işlemler sırasında İMA aletler ile tutulmaz, elektrokoter ile dokunulmaz. Elektrokoter ısısı termal hasarı önlemek için düşük seviyede tutulmalıdır (20,27).

Pedikül, toraks duvarından 1. interkostal arter ayırımına kadar diseke edilir. Bu seviyede frenik sinir ile İMA'nın çaprazı büyük önem arz eder. Bu aşamada frenik sinirin hasar görmemesi postoperatif iyileşme açısından büyük önem taşır. Greft uzunluğu yeterli ise birinci interkostal arterin rutin olarak ayrılmasına gerek olmadığı bazı kaynaklarda yer almasına rağmen(20) literatürde ve klinik tecrübelerde birinci interkostal arterin neden olduğu kaçış fenomeni nedeniyle anjina semptomu gelişen ve bu dalın embolizasyonu ile şikayetleri gerileyen hastalar olduğu bilinmektedir (28).

İMA diseksiyonu, distalde bifurkasyon öncesinde 6-7. interkostal arterler ayırımında sonlandırılmalıdır. Alt uçun bifurkasyon öncesinde ayrılması kollateral dolaşım ile göğüs duvarı beslenmesine katkı sağlamaktadır. Ayrıca bifurkasyon bölgesinin musküler regülasyon nedeniyle İMA'nın spazma en yatkın bölgesi olduğu bilinmektedir (29). Şekil 2.2'de greftin proksimal ve distal kısımlarındaki regülatör kasları ve bölgelere göre reaktivite düzeyleri görülmektedir (26).



Şekil 2.2: İMA'nın bölgelere göre kontraktilite farklılığı ve musküler regülatör bölgelerin şemalaştırılmış hali

Diseksiyon işlemi tamamlanan bir İMA grefti Şekil 2.3'te görülmektedir. Diseksiyonu tamamlanan İMA ayrılmadan sistemik heparin uygulaması yapılır. Heparin dozu cerrahi plana göre değişiklik gösterebilir. Sistemik heparin uygulamasının takibinde 6-7 interkostal arterler arasından makas ile ayrılır. Takibinde distal uçta metal klip ve elektrokoter vasıtasıyla kanama kontrolü uygulanır. Proksimal uç ise görsel olarak kanama kontrol edilmesi sonrasında bulldog klemp ya da küçük metal klip ile kanama kontrolü sağlanır ve greft bir spanç ile sarılır. Bu spanç 20 mg papaverin ile 20 ml %0,9 NaCl solüsyonu karıştırılarak ısıtılır. Alternatif yöntem olarak 500 ml ringer laktat, 50 mg sodyum nitroprussid ve 30 ml heparinize kan ile hazırlanan solüsyon da banyo olarak kullanılabilir (20).



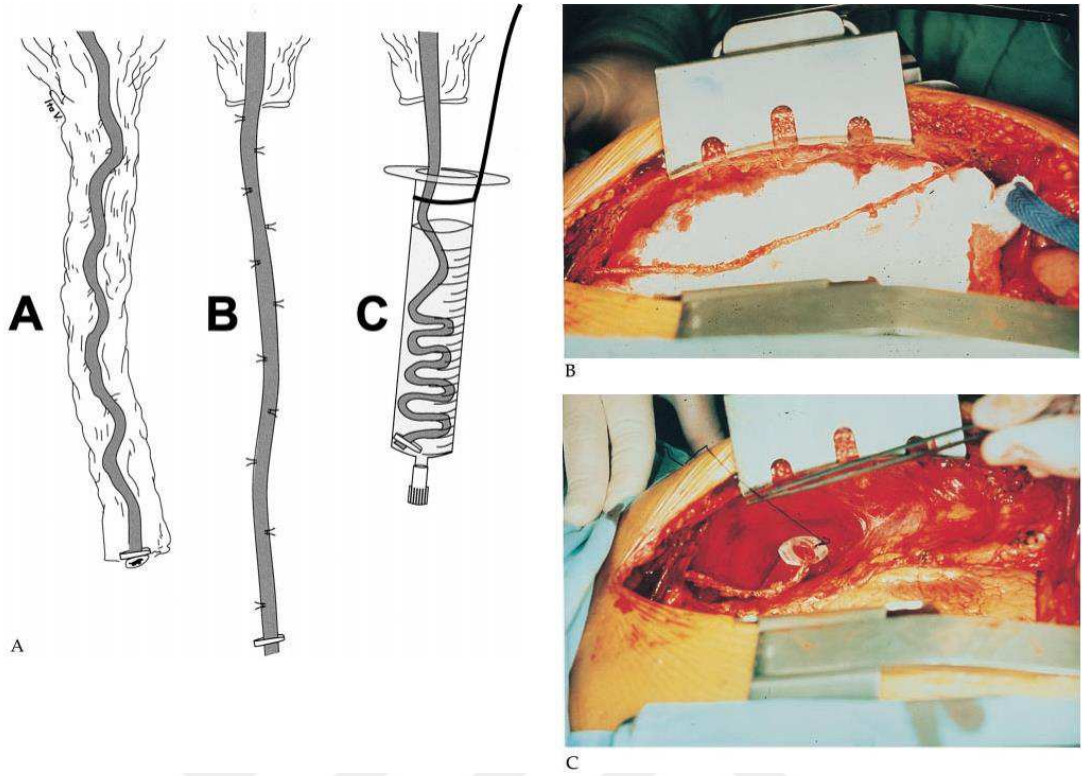
Şekil 2.1: Diseksiyonu tamamlanmış örnek internal mammaryan arter grefti

Baypas işlemi sırasında, İMA greftinin boyu sol ön inen arterin pozisyonuna ve anastomoz yapılacak yere göre ayarlanır. Boy ayarlaması sonrası arterin distal kısmı kesildikten sonra kanama miktarına göre greftin kullanılıp kullanılmama, in-situ veya serbest kullanma kararı için muayene edilir. Akım 60 ml/dk'nin üstünde olması erken dönem greft komplikasyonu ve periprosedürel miyokardiyal enfarktüs riski açısından önemlidir. Yeterli akım gözlenmemesi durumunda damar içine sıvı enjekte edilmesi ya da prob ile dilatasyon uygulanması endotel hasarlanması açısından uygun değildir (20).

Boy ayarlaması sonrasında İMA distal ucu anastomoz için hazırlanır. 7-0 veya 8-0 polipropilen suture ile devamlı anastomoz tekniği ile anastomoz yapılır. Bu sırada damar duvarı penset ile tutulmaz, yalnız çevre kas dokuları ve fasyalar aracılığı ile pedikül yönlendirilir. Anastomoz tamamlandıktan sonra pedikülün sağ ve sol kısmı epikarda basit suturelar ile tespit edilir.

Eğer İMA'nın uzunluğu anastomoz planlanan yer için uygun değil ise İMA serbest greft olarak da kullanılabilir. Nitekim İMA'nın serbest olarak kullanıldığı durumlarda da in situ kullanımına benzer başarıda sonuçların gösterildiği çalışmalar literatürde mevcuttur (30,31).

Son yıllarda kullanımı artan bir yöntem de İMA greftinin iskeletize olarak hazırlanmasıdır. Bu yöntem teknik olarak zorluğu ve İMA'nın hasarlanma ihtimalinin artması nedeniyle çok sık kullanılmamasına rağmen sternal yara enfeksiyonu riski yüksek hastalarda iskeletize İMA kullanılması 2018 ESC/EACTS miyokardiyal revaskülarizasyon rehberinde kanıt düzeyi sınıf 1 ve kanıt düzeyi B olarak tavsiye edilmektedir (17). Şekil 2.4'te iskeletize olarak hazırlanan İMA greftinin operasyon sırasında saklama yöntemi şematik olarak ve resim ile görülebilmektedir (32).



Şekil 2.4: İskeletize olarak hazırlanmış İMA greftinin operasyon sırasında saklanma yöntemleri

2.4.2. Radial Arter

Radial arter grefti, 1973 yılında Carpentier'in kullanımını tanımlamasını takiben KABG'nin ilk dönemlerinde kullanılmış ancak yapılan kontrol anjiyografilerde erken greft oklüzyonu oranının yüksek saptanması (%40-70) üzerine kullanımı terk edilmiştir. Ancak 20 yıl sonra yapılan kontrol anjiyografilerde greft patensinin çok yüksek saptanması üzerine (30 hastada %100) tekrar radial arter grefti kullanılmasını gündeme getirmiştir (33). 1990'lı yıllarda arteriyel greftlerin fizyolojik üstünlükleri nedeniyle tam arteriyel revaskülarizasyon gündeme gelmiş ve birçok klinikte radial arter greftlerinin kullanım sıklığı artış göstermiş ve radial arter hazırlama teknikleri geliştirilmiştir.

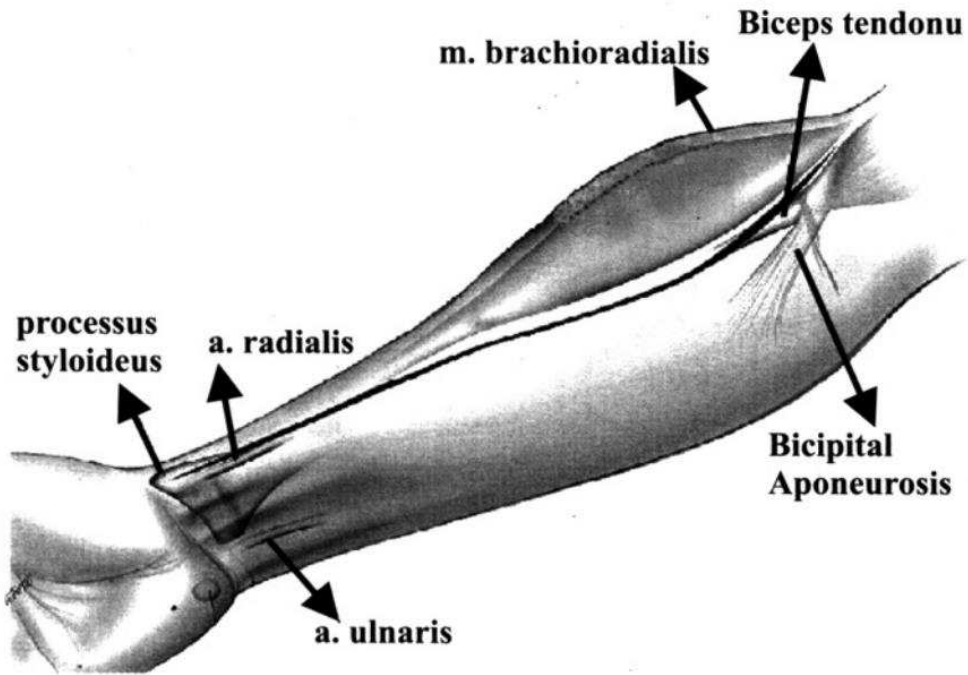
1995 yılında yayınlanan Calafiore ve arkadaşlarının yayınladığı 148 hasta üzerinde yapılan kısa orta dönem sonuçların ele alındığı çalışmada erken kontrollerde (30 günden erken) %100, orta dönem kontrollerde ise (ortalama 14 ay) %94'lük bir patens oranı gözlenmiştir (34).

Radial arter, ortalama 20 cm uzunluğunda, 1,5-3 mm çapında küçük çaplı musküler bir arterdir. İMA, gastroepiploik arter gibi greft olarak kullanılabilen diğer

arterlerden daha kalın bir media tabakası bulundurur ve miyositler daha sıkı bir şekilde organize olmuştur.

Radial arter ulnar arter ile birlikte elin dolaşımını sağlayan arter olduğu için greft olarak kullanılması durumunda ulnar arterin sağlıklı ve elin dolaşımını sağlayacak kapasitede olduğu preoperatif dönemde mutlak surette test edilmelidir. Bu kontrol Allen testi adı verilen kolay ve etkili bir yöntem ile yapılabilir (35).

Allen testi pozitif (ulnar arter akımı yeterli olmayan) hastalarda, hemodiyaliz fistülü için radial arter kullanımı planlanan hastalarda, Reynaud hastalığı olan hastalarda radial arter grefti kullanımı kontrendikedir.



Şekil 2.5: Radial arterin konumu ve insizyon trasesi

Radial arter, ulnar arter ile birlikte brakial arterin iki uç dalından birisidir. Brakial arter kübital fossada iki uç dalını verdikten sonra başlar. Verdiği ilk dal olan rekürren radial arterin korunması ön kol ile ilgili postoperatif semptomlar için önem arzeder (36). Radial arter, seyri sırasında ön kolun medialinde laterale doğru geçiş yapar. Brakioradial kas ile önkol derin kasları arasında seyrederek ve bilek seviyesinde yüzeyselleşir (37). Bu stiloid proses seviyesinde derin ve yüzeysel palmar arkı oluşturan dalları vererek sonlanır (Şekil 2.5) (36).

Radial arterin spazma yatkın olması, ön kol ve elin kutanöz innervasyonunu sağlayan sinirler ve kaslar ile yakın ilişkisi nedeniyle cerrahi olarak hazırlanması özelliklidir. Greft cerrahi olarak hazırlandıktan sonra spazm oluşmasını önlemek için

çeşitli solüsyonlar ve vazodilatör ajanlar kullanılmaktadır. 90'lı yıllarda papaverin ile vazodilatasyon sağlansa da takip eden yıllarda öncelikle Guo-Wei He'nin tanımladığı Hong Kong Üniversitesi protokolü ile birçok merkezde verapamil ve nitrat içeren solüsyonların daha üstün açıklık oranları ve endotel fonksiyonlarının daha iyi korunması üzerinde daha iyi sonuçlar alınması üzerine bu tür solüsyonların kullanımı günümüzde öncelik kazanmıştır (38).

2.4.3. Gastroepiploik Arter

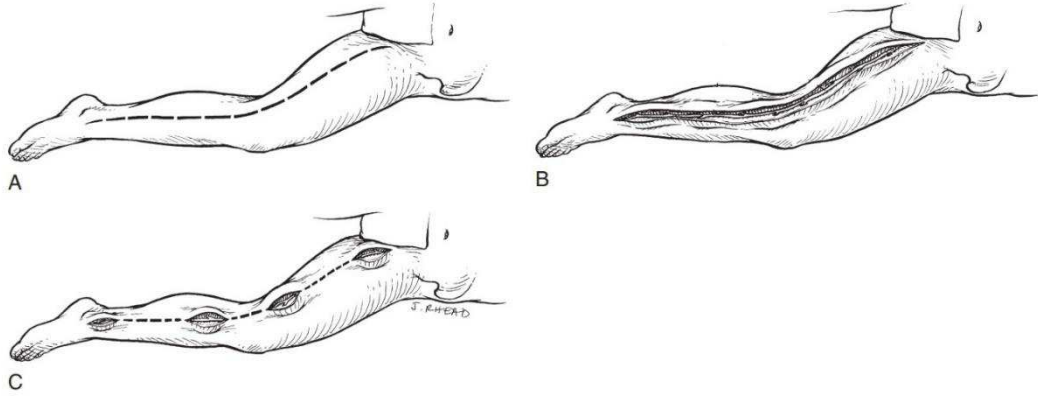
Attum tarafından 1987 yılında kullanımı bir vaka serisi ile tanımlanan gastroepiploik arter, tam arteriyel revaskülarizasyonun önemi ve başarısı nedeniyle klinikte alternatif yeri olabilecek greftlerden birisidir (39). Çapının diğer arteriyel greftlere nazaran küçük olması, ekstra laparotomi insizyonu gerektirmesi, in situ kullanıma uygun olmaması ve operasyon süresinde artışa neden olması gibi faktörler nedeniyle kullanım oranı günümüzde çok düşüktür ve ancak kullanılacak uygun greft olmaması durumunda alternatif olarak akla getirilebilir.

Bu arterler dışında, inferior epigastrik arter, splenik arter, subskapular arter, inferior mezenterik arter, ulnar arter ve interkostal arterlerin de KABG için greft olarak kullanımı tanımlanmış olsa da dezavantajları nedeniyle klinik kullanımda önemli bir seviyeye ulaşmamıştır.

2.4.4. Büyük Safen Ven

Büyük safen ven (*Vena Saphena Magna*, VSM), günümüz koroner arter baypas cerrahisinde LAD pozisyonu dışında en sık kullanılan grefttir. 2019 yılında yayınlanan ve Birleşik Krallık'ta çalışmakta olan kalp cerrahlarının greft seçimlerinin incelendiği çalışmada safen ven greftinin %98 rutin kullanımda olduğu belirtilmiştir(40). Arteriyel greftlerin kullanım sıklığının son yıllarda artış göstermesine rağmen VSM, KABG ve periferik arteriyel cerrahilerde sıklıkla kullanılmaya devam eden bir grefttir. Tam arteriyel revaskülarizasyonun uzun dönem faydaları sık sık çalışılmış ve kanıtlanmış olsa da eksik revaskülarizasyondan kaçınmak, yeterli greft elde etmek için safen ven kullanımı günümüzde hala çok yaygındır.

Açık tünelli veya total endoskopik olarak safen ven grefti hazırlanabilir. Şekil 2.6'da görsel olarak VSM trasesi, tünelli ve açık insizyonlar görülmektedir(20).



Şekil 2.6: VSM trasesi, tünelli ve açık cerrahi teknik

VSM, alt ekstremitenin yüzeysel venöz drenajını *vena safena parva* ile birlikte sağlayan yüzeysel bir vendir. Cilt altında membranöz fasyanın üzerinde seyrederek VSM, ayağın dorsumunda bulunan yüzeysel venlerin birleşimi ile dorsal venöz arkta başlar, medial malleolün anteriorundan geçtikten sonra tibianın medial kenarında seyrederek popliteal fossanın posteromedialinden uyluk anteromedialine dönerek inguinal bölgede femoral vene dökülene kadar düz bir hat çizer (Şekil 2.6).

Konvansiyonel safen greft hazırlama tekniğinde medial malleol anteriorunda longitudinal cilt ve cilt altı kesisini takiben VSM lokalizasyonu tespit edilir. Bu seviyede yüzeysel duyu siniri olan safen siniri ile olan yakın komşuluğu önem taşımaktadır. VSM proksimal seviyede kanüle edilmesinin ardından 150 mmHg altında bir basınçta şişirilerek çevre doku ve yan dalların izolasyonu kolaylaştırılır. Bu aşamada safen ven penset ile tutulmamalıdır, çevre dokular yardımı ile yönlendirilir. Takibinde izole edilen dallar duvara yakın mesafeden (yan dalın kalınlığına göre) 3-0 ipek sütür ile bağlanır, gerekli durumlarda metal klipsler de kullanılabilir. Cilt kesisi safen trasesine göre uzatılabilir, uygun uzunluğa erişilmesini takiben VSM'nin greft olarak kullanılacak kısmı proksimal kısmından ayrılarak mümkünse heparinize kan eklenmiş salin solüsyonunda saklanır. Cilt ve ciltaltı dokular uygun yöntem ile kapatılır.

No-touch (temassız) yöntem ile hazırlanan VSM grefti ise kanüle edilmez, şişirilmez. Damar çevre dokulardan pedikülü ile birlikte izole edilir. Greft anastomoz aşamasına gelindiği zaman proksimal ve distalden kesilerek ayrılır. Yan dallar anastomoz sonrasında kontrol edilerek bağlanır veya kliplenir. Bu yöntemde VSM'nin şişirilmemesinin endotel hasarını azalttığı düşünülmektedir (41). Bu sebeple greft eğer konvansiyonel yöntem ile hazırlanıyorsa da olabildiğince az manipülasyon ve şişirme basıncının olabildiğince düşük tutulması önem arz etmektedir.

Venöz ve arteriyel greftler arasında biyolojik karakteristikler açısından bir dizi fark bulunmaktadır. Bunlar şu maddelerde özetlenebilir.

- Venöz greftler arteriyel greftlere göre vazoaaktif maddelere daha duyarlıdır
- Ven duvarlarının beslenmesi vazo vazorumlar ile sağlanır, ancak arterlerde vazo vazorumlara ek olarak endotel aracılığı ile beslenmenin de varlığı daha çoktur
- Arter endoteli daha çok miktarda endotel bağımlı relaksasyon faktörü (EBRF) ve nitrik oksit (NO) salınımı yapar
- Ven yapıları arter yapılarına nazaran daha düşük basınçta işlev görmeye uygundur

KABG ile arteriyel basınca maruz kalan venöz greftlerde bir dizi adaptasyon mekanizması gözlenir. Bunların greft patensine etkisi olduğu gözlenmiştir (26).

2.4 ARTERİYEL GREFTLERİN VAZOMOTOR ÖZELLİKLERİ

2.4.1. Endotel Bağımlı Relaksasyon Ve Konstrüksiyon Faktörleri:

Önceleri vasküler endotel damarın iç yüzeyindeki basit bir hücre katmanı olarak kabul edilmekteydi. Endotel bağımlı vazoaaktif substratların keşfedilmesi ve anlaşılması ile bu anlayış değişti. Temel olarak endotel fonksiyonları şu şekildedir;

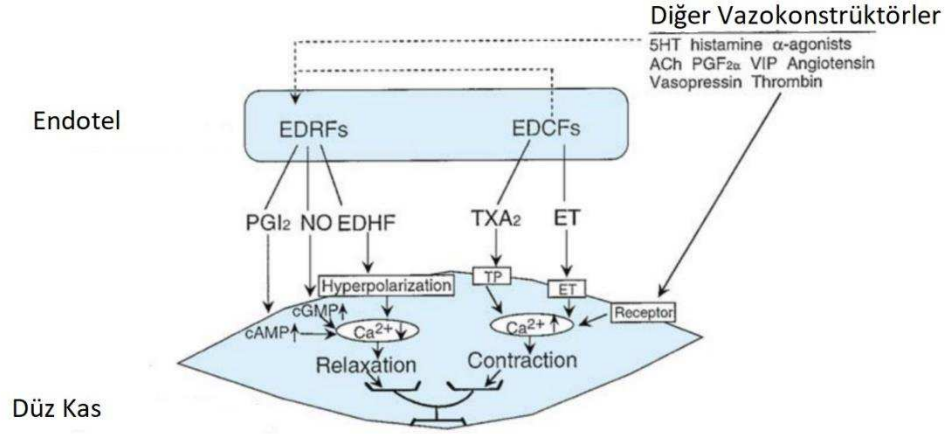
- Vazoaaktif substratlar ile vasküler tonusun modülasyonu
- Platelet agregasyonu ve trombüs formasyonu oluşumunu engelleme
- Antiaterosklerotik fonksiyon

Endotel bağımlı relaksasyon temel olarak uygun vasküler tonusu sağlamaktadır. Bu görev EBRF ile sağlanır. Bu faktörler NO, prostasiklin (PGI₂) ve endotel bağımlı hiperpolarize edici faktördür. Bu faktörler vazodilatasyonu farklı mekanizmalar ile sağlarlar (26).

PGI₂, siklooksijenaz metabolizması ile araşidonik asitten üretilir. cAMP (siklik adenzin monofosfat) yolu ile kalsiyum salınımına yol açarak düz kas hücrelerinin polarizasyonunu artırarak gevşemeyi sağlar. NO, nitrik oksit sentaz ile l-argininden sentezlenir. Vasküler sistemde endotelde üretilen NO, cGMP (siklik guanozin monofosfat) upregülasyonu ile cGMP bağımlı protein kinazı aktive ederek ve ek olarak cGMP bağımlı potasyum kanallarını direkt aktive ederek vazodilatasyona yol açar.

Endotel bağımlı hiperpolarize edici faktörün ise etki mekanizması net olmasa da bazı metabolitler üzerinden düz kas hücrelerini hiperpolarize ederek vasküler tonusu düşürdüğü gözlenmiştir (42).

Endotelden salınan endotelin ve tromboksan A₂ ise endotel bağımlı konstrüksiyon faktörleri olarak adlandırılmaktadırlar. Şekil 2.7’de endotel ve düz kas kaynaklı faktörler ve ilişkileri şematik olarak incelenebilir (26).



Şekil 2.7: Greft endoteli ve mediadaki kas dokusu arasındaki vazomotor ilişkilerin şematik gösterimi

2.4.2. Vazokonstrüktör Ajanlar Ve Arteriyel Greftlerde Vazospazm

Vasküler tonusun ayarlanmasında çok sayıda farklı maddeler rol almaktadır. Bunların bir kısmı koroner dolaşımda daha önemli rol oynar. Bunların başlıcaları tablo 1’de özetlenmiş halde incelenebilir (26).

Tablo 2.1: Vazospazm ile ilişkili vazokonstrüktör ajanlar

Vazokonstrüktör ajanlar
Endotel kaynaklı konstrüksiyon faktörü
Endotelin
Prostanoidler
Tromboksan A ₂
Prostoglandin F _{2α}
α Adenoreseptör Agonistleri
Noradrenalin
Metoksamin
Fenilefrin
Trombosit kaynaklı faktörler
5-hidroksitriptamin (5-HT)
Mast hücrelerinden ve bazofillerden salınan faktörler

Histamin
Muskarinik reseptör agonistleri
Asetilkolin
Renin-Anjiyotensin sisteminde açığa çıkan maddeler
Anjiyotensin-II
Nöropeptidler
Arjinin vazopressin (AVP)
Potasyum

Bu vazokonstrüktör ajanlar vasküler tonusun korunmasında rol oynamaktadırlar. Düz kasta olan vazokonstrüktör ve endotel hücrelerinde olan vazodilatasyon etkilerini çeşitli reseptörler aracılığı ile göstermektedirler. İleri düzeyde ve yeteli akıma izin vermeyecek seviyede olan vazokonstrüksiyon ise vazospazm olarak adlandırılmaktadır (26).

Vasküler tonus vazokonstrüktör ve vazodilatatör ajanlar arasındaki denge ile sağlanır. Greftlere uygulanan mekanik işlemler, endotel iskemisi, metabolik faktörler gibi nedenlerden ötürü vazospazm gözlenebilir. KABG sonrasında kısa ve uzun dönemde vazospazmın kardiyak kan akımını azaltarak mortalite ve morbiditeye neden olması sebebiyle vazospazma karşı koruyucu önlemler alınması büyük önem taşımaktadır.

2.5 GREFT KORUMA SOLÜSYONLARI

Dünyada her yıl 1.000.000'a yakın sayıda yapılan KABG'nin her detayı üzerine çokça araştırma yapılmıştır ve birçok detay üzerine çalışmalar devam etmektedir. Bu konuların en önemlilerinden birisi greftlerin açıklığını artırmak üzerine ve greftlerin uygun koşullarda saklanması üzerine yapılan prosedürlerdir.

Her KABG cerrahisi için en az bir, çoğunlukla daha fazla sayıda greft kullanılmaktadır. İMA grefti çoğunlukla in-situ ve papaverin emdirilmiş bir spanç içine sarılarak bekletilmektedir. Bu nedenle çalışmalar 1980'li yıllardan beri daha çok VSM grefti prezervasyonu üzerine yapılmıştır. (43–45)

Yapılan çalışmalarda ortak nokta olarak kolloid içeriği düşük olan solüsyonlarda saklama durumunda transmural geçişin artması, iskemi reperfüzyon hasarı ve bunlara bağlı olarak subendotelyal ödemin oluşması nedeniyle greft kalitesinin kötüleşmesi, bu nedenle de erken ya da geç greft yetmezliği üzerine yoğunlaşmıştır (1).

Erken dönemde yapılan çalışmalarda salin solüsyonuyla otolog kan karşılaştırılmış (43,45–47) ve kolloid içeriği olmayan salin solüsyonunda otolog kana göre daha fazla subendotelial ödemin olduğu görülmüştür.

Santoli ve arkadaşları(48) 1993 yılında yaptıkları çalışmada Wisconsin Üniversitesi Solüsyonu (WÜS) ile salin solüsyonunu endotel prezervasyonu açısından karşılaştırmış ve sonrasında kolloid içerikli solüsyonların greft fonksiyonunu korumada rolü daha sıkça araştırılmaya başlamıştır. Bu çalışmalardan Cavallari ve arkadaşlarının otolog kan, WÜS ve salin solüsyonunda saklanan VSM greftlerinin endotelial ve düz kas tabakasının fonksiyon ve morfolojik açıdan karşılaştırmaları(49), 2009 yılında Weiss ve arkadaşlarının 293 hastadan alınan VSM örneklerinin salin solüsyonu, %5 albümin eklenmiş salin solüsyonu ve histidin-triptofan-ketoglutarat (HTK) solüsyonlarında saklanması sonucunda oluşan değişiklikleri elektron mikroskopunda değerlendirdikleri çalışma(50) dikkat çeken çalışmalardandır.

2005 yılında ilk sonuçları yayınlanan, 3014 hasta üzerinde çalışılan, çift kör ve randomize bir faz 3 ilaç çalışması olan PREVENT IV'te (Project of Ex-Vivo Vein Graft Engineering via Transfection IV) edifoligide'in (E2F (ökaryotik transkripsiyon faktörü 2) inhibe edici bir oligonukleotid), intimal hiperplazi ve greft yetmezliğini önleme etkisi üzerine çalışma yapılmış, ancak 1 yıllık anjiyografik sonuçlar ve 5 yıllık ölüm, miyokard enfarktüsü ve tekrar revaskülarizasyon ihtiyacı açısından fark görülmemiştir (51).

Çalışmamızda kullandığımız solüsyon olan TiProtec™, ven grefti koruma üzerine tasarlanmış potasyum klorid ve N-asetilhistidin'den zenginleştirilmiş bir saklama solüsyonudur. 2011 yılında Wilbring ve arkadaşlarının safen ven greftlerinin endotelial vasküler fonksiyonlarının korunması üzerine salin solüsyonu ile karşılaştırmalı olarak yaptıkları çalışma ile tanınmaya başladı (52). GALA™ ve DuraGraft™ ticari isimleriyle çıkarılan solüsyonlar da yine kolloid özellikli, greft koruma amacıyla üretilen ticari preparatlardır.

Tablo 2.2: Tiprotec, HTK ve salin solüsyonlarının içeriklerinin karşılaştırılması

Madde içeriği (mmol/L)	TiProtec™	HTK (Custodiol®)	Salin Solüsyonu
Alfa-Ketoglutarat	2	1	-
Aspartat	5	-	-
Histidin	-	198	-
N-Asetil sistein	30	-	-
Glisin	10	-	-
Alanin	5	-	-
Triptofan	2	2	-
Sukroz	20	-	-
Glukoz	10	-	-
Mannitol	-	30	-
Cl ⁻	103,1	50	154
H ₂ PO ₄	1	-	-
SO ₄ ²⁻	-	-	-
HCO ₃	-	-	-
Na ⁺	16	15	154
K ⁺	93	10	-
Mg ²⁺	8	4	-
Ca ²⁺	0,05	0,015	-
Deferoksamin	0,082	-	-
LK-614*	0,017	-	-
pH	7,0	7,2	5,5
Ozmolarite	305	310	308

*LK-614: Yeni geliştirilmiş lipofilik, zar geçirgen hidroksamik asit türevi demir şelatörü(53)

Çalışmamızda kullanılan TiProtec™ solüsyonunun salin solüsyonu ve HTK solüsyonları ile karşılaştırmalı olarak içeriği Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Şehir Hastaneleri Yüksek İhtisas Kalp ve Damar Hastanesi'nde Mayıs 2021 ile Kasım 2021 tarihleri arasında KABG yapıp LIMA grefti kullanılan hastalardan alınan örneklerin Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde çalışarak elde edilen verilerin analizi ile yapıldı.

Çalışmamızdaki tüm araştırmacılar Helsinki deklarasyonu, İyi Klinik Uygulama ilkelerine uygunluğu ve denek araştırma etik kuralları ile çalışmayacağı belirtecek imzalarını vermiştir. 14 Nisan 2021 tarihinde E1/21/1691 karar numarası ile kaydedilen Sağlık Bakanlığı Ankara Şehir Hastanesi 1'nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu kararı ile çalışmaya başlandı.

Çalışmamızda gönüllülük ve gizlilik esastır. Hastalardan aydınlatılmış bilgilendirme onamları alınmıştır. Çalışma deney ve kontrol grupları olan prospektif bir çalışma olarak dizayn edildi. Benzer özelliklerde, farklı vasküler greft ile yapılan çalışma(47) örnek alınarak güç analizi sonucunda deney ve kontrol grubunda minimum 22'şer hastanın bulunması gerekli görüldü.

Çalışmada KABG yapılması amacı ile LIMA grefti hazırlanan ve bu greftin anastomoz öncesinde kesilen, operasyonun cerrahı tarafından kullanılması planlanmayan distal kısmın 2 cm üzeri olan bütün hastalar dahil edildi. Operasyon sırasında kullanılan greftin kullanılmayacak kısmı 2 cm altı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hastaların kendi istekleri ile araştırmadan çekilmeleri ek dışlanma kriteri idi.

Çalışmamızda, onam alınan hastaların demografik özellikleri (yaş, cinsiyet ve sigara kullanımı) ek hastalıkları (koroner arter hastalığı, periferik arter hastalığı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kronik böbrek hastalığı, tip 2 diyabetes mellitus, hipertansiyon, serebrovasküler olay öyküsü ve diğer ek hastalıklar) sorgulandı ve kayıt altına alındı.

3.1. CERRAHİ TEKNİK

Çalışmamızda günümüzde en sık uygulanan İMA greft hazırlama tekniği ile hazırlanan greftlerden örnekler kullanıldı.

Operasyon öncesinde hastalara premedikasyon amacıyla 0,1 mg/kg diazepam uygulandı, sonrasında radial arter ve periferik venöz kanülasyonu yapıldı. Takibinde genel anestezi indüksiyonu 0,15 mg/kg midazolam, 10 mcg/kg fentanil ve 0,6 mg/kg rokuronyum uygulanarak anestezi indüksiyonu yapıldı. Ardından endotrekeal entübasyon yapıldı. Sol juguler venin santral kanülasyonu rutin olarak uygulandı. Anestezi idamesinde inhaler sevofluran, remifentanil indüksiyonu ve uyanıklık takibine göre ek dozlarda rokuronyum kullanıldı.

Steril boyanma ve örtünmeyi takiben cilt ve ciltaltı insizyonu yapıldı. Takibinde median sternotomi sonrası sternum asimetrik özel ekartör ile açılarak toraks

duvarı göz hizasına kadar yükseltildi. Toraks iç yüzünde, sternum dış kenarı hizasında İMA'nın medialinde ve İMA'ya paralel olacak şekilde elektrokoter ile kesi yapılarak pedikül sınırı belirlendi. 6. İnterkostal aralıktan başlanarak İMA ve çevresindeki pedikül elektrokoter bıçağının uç kısmı ile akımsız şekilde kostalar ve toraks iç yüzeyinden ayrılarak proksimal ve distal kısımlar izole edilerek greftler hazırlandı. 350 IU/kg heparin uygulanmasını takiben pedikül distal bifurkasyon öncesinden makas ile ayrıldı, görsel olarak akım olduğu görülen greft distal ucu metal klip ile oklüde edildi. Takibinde greft 40 °C sıcaklığındaki salin solüsyonuyla ısıtılmış spanç üzerine konuldu ve 20 mg papaverin 20 ml salin solüsyonu ile sulandırılarak pedikül üzerine döküldü. Spanç katlanarak greft proksimal uca yakın ve gerginlik oluşmayacak şekilde toraks boşluğuna yerleştirildi. Takibinde perikardiyotomi ve aortounicaval kanülasyon yapıldı, bunu takiben vakanın cerrahı tarafından sol ön inen arter anastomoz bölgesi belirlendi ve İMA grefti boyu ve gerginliği hesaplanarak greftin distal kısmı ayrılarak anastomozda kullanılacak greft uç kısmı hazırlandı. Bu aşamada ayrılan distal kısım 2 santimetre üzeri ise 1'er santimetrelilik kontrol ve deney grupları oluşturularak saklama koşullarına alındı.

30 ml'lik steril plastik taşıma kabına 10 ml %0,9'luk NaCl çözeltisi (salin solüsyonu) ve 10 ml TiProtec (Dr Köhler Chemie, Bensheim, Almanya) solüsyonu eklenerek oluşturulan kontrol ve deney taşıma kaplarına alınan greft örnekleri çalışma için kullanıldı.

Aktive koagülasyon zamanı değerinin 450 saniye üzerinde olması üzerine KPB başlatıldı ve orta derece hipotermi uygulandı. Takibinde asendan aortanın kros klemp ile klempenmesi, topikal soğuk ve antegrad-retrograd soğuk kardiyopleji uygulamaları yapıldı ve İMA grefti en son kullanılacak şekilde koroner anastomozlar uygulandı. İMA anastomozu sonrası sistemik ısınmayı takiben kros klemp kaldırıldı ve kardiyak aktiviteyi takiben KPB'nin sonlandırılması, dekanülasyon işlemlerinden sonra sternum ve cilt-ciltaltı dokuları uygun planda kapatılarak operasyona son verildi.

3.2. ÇALIŞMA VE DENEY PROTOKOLÜ

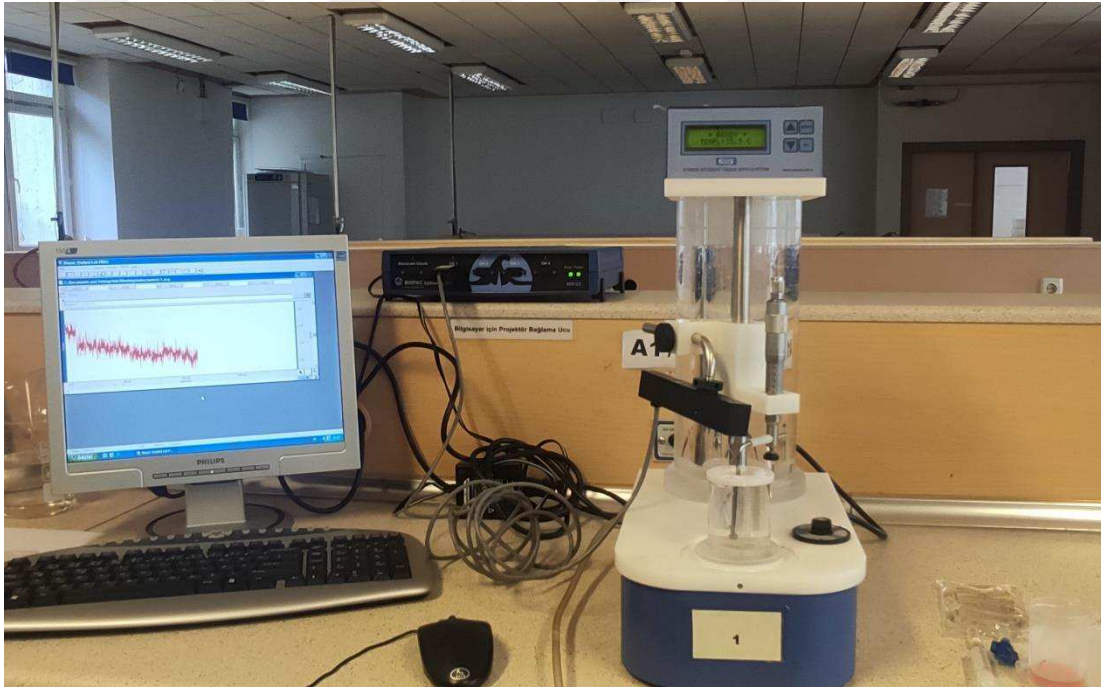
Çalışmamızda, KABG ameliyatında rutin olarak LIMA grefti hazırlanması sırasında greft distalindeki operasyonda kullanılmayacak kısım 2 cm üzeri ise 1'er cm'lik kontrol ve deney grupları oluşturuldu. Cerrahi protokol sırasında steril plastik taşıma kaplarına alınan deney ve kontrol grubu örnekler oda sıcaklığında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Fizyoloji Laboratuvarı'na getirildi.

3.2.1 Organ Banyosu Deneyi Protokolü

Halkaların solüsyona yerleştirilmelerinin 2. saatlerinin geçmesini takiben iskeletize edilerek 1 mm kalınlığında vasküler ringler oluşturuldu. Takibinde 36,5 °C'de karbojen (%95 oksijen, %5 karbondioksit) ile havalandırılan, 20 ml Krebs

solüsyonu içeren organ banyosuna platin kancalar vasıtası ile yerleştirildi. Krebs solüsyonu sodyum klorür (120 mM/L), potasyum klorür (4,7 mM/L), kalsiyum klorür (2,5 mM/L), potasyum sülfat (1,2 mM/L), magnezyum sülfat (1,2 mM/L), sodyum bikarbonat (25 mM/L), glukoz (10 mM/L), propranolol hidroklorid (0.002 mM/L), ve sodyum EDTA (0.038 mM/L) distile su içerisine eklenerek hazırlandı (48). Yanıtlar dört kanallı Transducer Acquisition System (COMMAT TDA-10-A, COMMAT, Türkiye) aracılığı ile bilgisayar ortamına aktarılarak BSL Analysis 4.1 for Windows, Student Lab. (Biopac System Inc.) programına aktarıldı.

Miyograf cihazı (Biopac Systems, Inc.) ile önce bazal duvar gerginliği tüm örnekler için 1 gram olacak şekilde ayarlandı. Ardından cihaz havuzuna ardışık şekilde artan dozlarda potasyum ve noradrenalin eklenmesi ile pik vazokonstrüksiyon oranları, takibinde NO salınımını indüklemek amacı ile 10^{-8} mMol/L dozundan başlanarak ardışık olarak artan düzeyde gliseril trinitrat eklenerek endotel bağımlı olmayan relaksasyon cevap oranları tespit edildi. Kullanılan maddelerin dozlamaları hassas tartı ve ayarlanabilir pipetler ile yapıldı.



Şekil 3.1: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarı'nda örnek deney düzeneği

3.2.2 Hematoksilen-Eozin Boyama ve CD31 Primer Antikor Boyama Protokolleri

Endotel hasarını ve bütünlüğünü, hücre canlılığını tespit etmek üzere deney ve kontrol gruplarına ayrılmış üçer adet örnek doku halkaların solüsyona yerleştirilmesinin üzerinden iki saat geçtikten sonra kesit alınmak üzere çıkarıldı.

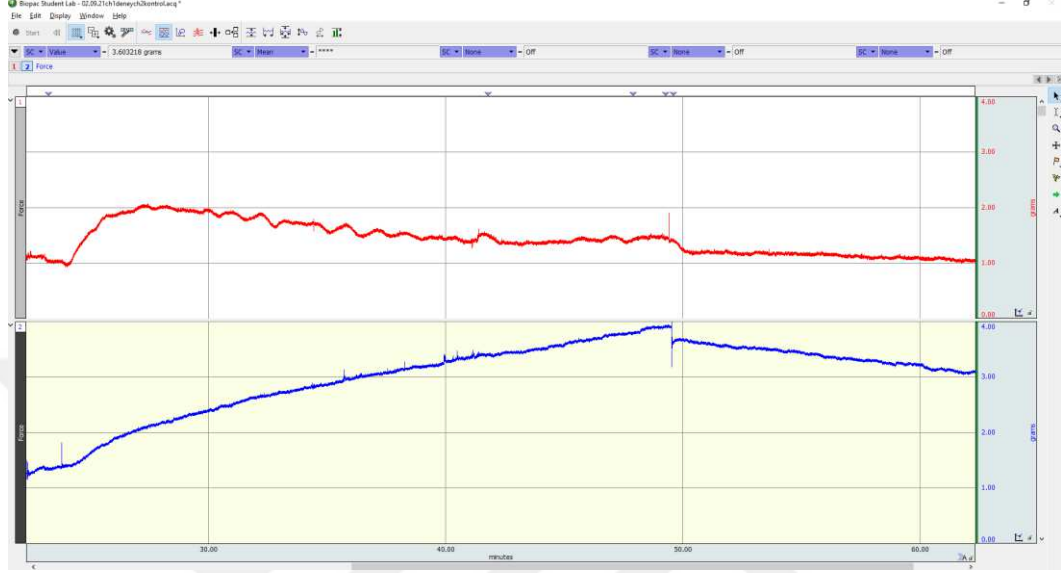
Hematoksilen eozin boyama için uygun şekilde fikse edilen, gömülen ve ardından mikrotom ile kesitleri alınan damar dokuları boyama yapma üzere preparat haline getirilmiştir. Preparatlar şale içindeki ksilollerde 2 kez 30'ar dakika olacak şekilde oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından azalan iki alkol serisinde (%100 ve %95) 5'er dakika bekletilmiştir. Musluk suyu ile yıkama sonrası Hematoksilen boyanması yapılmıştır. Hematoksilende 5-7 dakika tutulun preparatlar, asit-alkole batırılıp çıkarılmış ve 7 dakika boyunca Scott solüsyonunda bırakılmıştır. Devamında musluk suyu ile yıkanmış ve 2 dakika Eozin uygulaması yapılmıştır. Bu uygulamadan sonra preparatlar akan suda yıkanmıştır. Yıkama sonrası, artan alkol serilerinde (%70, %95, %100) 5'er dakika tutulmuş ve ksilole alınmıştır. Ksilolde 2 kez 30'ar dakika tutulan dokular Entellan ile kapatılmış ve uygun mikroskopla x4 büyütmede incelenerek fotoğrafları çekilmiştir.

CD-31 (cluster of differentiation 31) immünohistokimyasal boyama için uygun şekilde fikse edilen, gömülen ve ardından mikrotom ile kesitleri alınan damar dokuları immünohistokimyasal boyanmak üzere preparat haline getirilmiştir. Preparatlar şale içindeki ksilollerde 3 kez 5'er dakika olacak şekilde oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından alkol-ksilol (%90 alkol + Ksilol) karışımında 3 dakika ve azalan alkol serilerinde (%95,90,80,70,50) 3'er dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkama yapılmıştır. Antijen maskeleyerek için Tris-EDTA solüsyonu (Ph: 9) kullanılmıştır. Tris-EDTA koyulmuş şalelere preparatlara uygun şekilde dizilerek mikrodalgada 21 dakika ısı verilmiştir. İşlem sonunda preparatlar oda sıcaklığında 30 dakika soğumaya bırakılmıştır. Preparatlar 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkanmıştır. Belirlenen alanlara %3 Hidrojen peroksit damlatılmış ve 10 dakika bekletilmiştir. Ardından PBS ile yıkama yapılmıştır. Boyama işlemine kit protokolüne (abcam – ab93697 Mouse and Rabbit Specific HRP Plus (ABC) Detection IHC Kit) uygun şekilde devam edilmiştir. 10 dakika protein bloklama basamağından sonra PBS ile yıkama yapılmıştır. Bu aşamadan sonra, 1/600 primer antikor (CD31 bs-0195R- Thermo) uygulanmış ve preparatlar gece boyu +4 °C inkübe edilmiştir. Gece boyu bekletilen dokular PBS ile yıkanmıştır. Sekonder antikor (abcam – ab93697 Mouse and Rabbit Specific HRP Plus (ABC) Detection IHC Kit/Biotinylated Goat Anti-Polyvalent Plus) ile 10 dakika inkübasyon sonrası Peroksidaz uygulaması yapılmıştır. Son olarak DAB (abcam – ab64238 DAB Substrate Kit/ 50x DAB Chromogen) solüsyonu uygulanmıştır. Bu aşamadan sonra preparatlar distile su ile 10 dakika yıkanmış ve preparatlar Hematoksilende 10'ar saniye tutulmuş ardından preparatlar akan suda yıkanmıştır. Yıkama sonrası azalan alkol serilerinde (%50,70,80,90,95,100) ve alkol-ksilol karışımında tutulmuştur. 10 dakika ksilolde tutulan dokular Entellan ile kapatılmış ve uygun mikroskopla x40 büyütmede incelenerek fotoğrafları çekilmiştir.

Bu işlemler Dr. Öğr. Üyesi Esin Akbay ve Dr. Muhammet Sefa Sağlam tarafından yapıldı.

3.3. VERİLERİN ANALİZİ

Elde edilen sonuçlar BSL Analysis 4.1 for Windows, Student lab. (Biopac System Inc.) programında analiz edilerek toplandı. İlgili programın örnek ekran görüntüsü Şekil 3.2’de incelenebilir.



Şekil 3.2: BSL Analysis 4.1 örnek ekran görüntüsü

Elde edilen veriler Windows için 28.0 ver Statistical Package for Social Science (SPSS INC. Chicago, Illinois, USA) paket programı kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel analiz olarak tanımlayıcı bulgular kısmına kategorik değişkenler sayı, yüzde verilerek sürekli değişkenler ise normal dağılan veriler için ortalama $\pm$ standart sapmaları belirlendi. Kategorik değişkenler için gruplar arasında fark olup olmadığı ise t testi ile p değeri bulunarak hesaplandı. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirildi ve istatistik hesaplamalarda anlamlı p değeri 0.05’in altı olarak belirlendi.

3.4. ÇIKAR ÇATIŞMASI

Çalışmaya katılan tüm araştırmacıların herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK VERİLER:

Literatürde LIMA grefti veya başka bir arteriyel greft için greft koruma solüsyonu etkinliğini araştıran yazı olmamakla birlikte kullanılacak olan ticari preparat Tiprotec'in kullanıldığı safen ven ile ilgili yapılan benzer çalışma dayanak alınarak yapılan güç analizinde %80 güç ve 0.05 hata payı ile 22'şer adet örnek ile kontrol ve deney grubu oluşturulmasının anlamlı sonuç için yeterli olacağı öngörülmüştür. Çalışmaya 22 hasta dahil edildi, çalışmadan çıkarılma kriterlerine uygun hasta olmadı, bütün hastalar çalışmaya dahil edildi.

İlgili hastaların tanımlayıcı özellikleri ve diğer veriler tablo 4.1'de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Araştırmaya dahil edilen hastaların bazı tanımlayıcı özellikleri ve dağılımı (devamı sonraki sayfada)

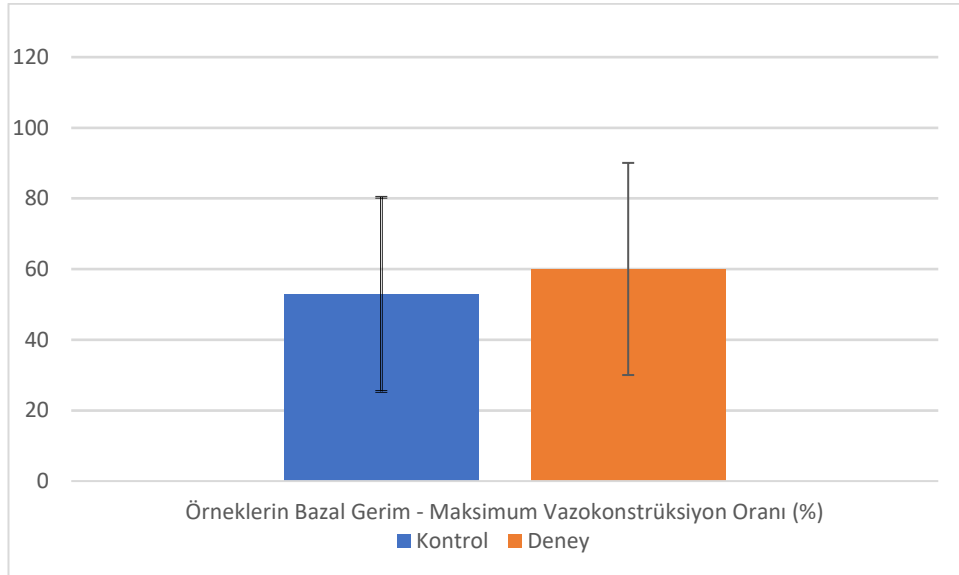
Parametreler (N=22)	
Yaş (yıl)	
Ortalama $\pm$ standart sapma	64,54 $\pm$ 8,28
Ortanca (min-maks)	65,5(41,0-79,0)
Cinsiyet, n (%)*	
Erkek	16(72,3)
Kadın	6(17,7)
Sigara, n (%)*	
Var	12(55,5)
Yok	10(44,5)
Koroner Arter Hastalığı, n (%)*	
Var	22(100,0)
Yok	0(0,0)
Periferik Arter Hastalığı, n (%)*	
Var	0(0,0)
Yok	22(100,0)
Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı, n (%)*	
Var	5(22,7)
Yok	17(87,3)
Kronik Böbrek Hastalığı, n (%)*	
Var	2(9,1)
Yok	20(90,9)

Diyabetes Mellitus, n (%)*	
Var	8(36,4)
Yok	14(63,6)
Hipertansiyon, n (%)*	
Var	15(68,2)
Yok	7 (31,8)
Serebrovasküler Olay Öyküsü, n (%)*	
Var	2(9,1)
Yok	20(90,9)
*: Sütun yüzdesi kullanılmıştır	

Her gönüllüden alınan örnekler iki parçaya bölünerek deney ve kontrol grupları oluşturulduğu için gönüllüler arasındaki demografik veriler ve ek hastalıklar açısından istatistiksel karşılaştırma yapılmadı.

4.2. DENEY VE KONTROL GRUPLARI MAKSİMUM VAZOKONSTRÜKSİYON KARŞILAŞTIRILMASI

Alınan damar ringlerinin organ banyosuna yerleştirilmesi ve dinlenim fazının tamamlanmasının ardından potasyum klorür ile vazokonstrüksiyon yanıtının görülmesi ve noradrenalin ile maksimal duvar kontraksiyonunun sağlanması ile ölçülen duvar gerginliklerinin bazal değere kıyasla yüzdesel olarak karşılaştırılması Şekil 4.1’de gösterilmiştir.

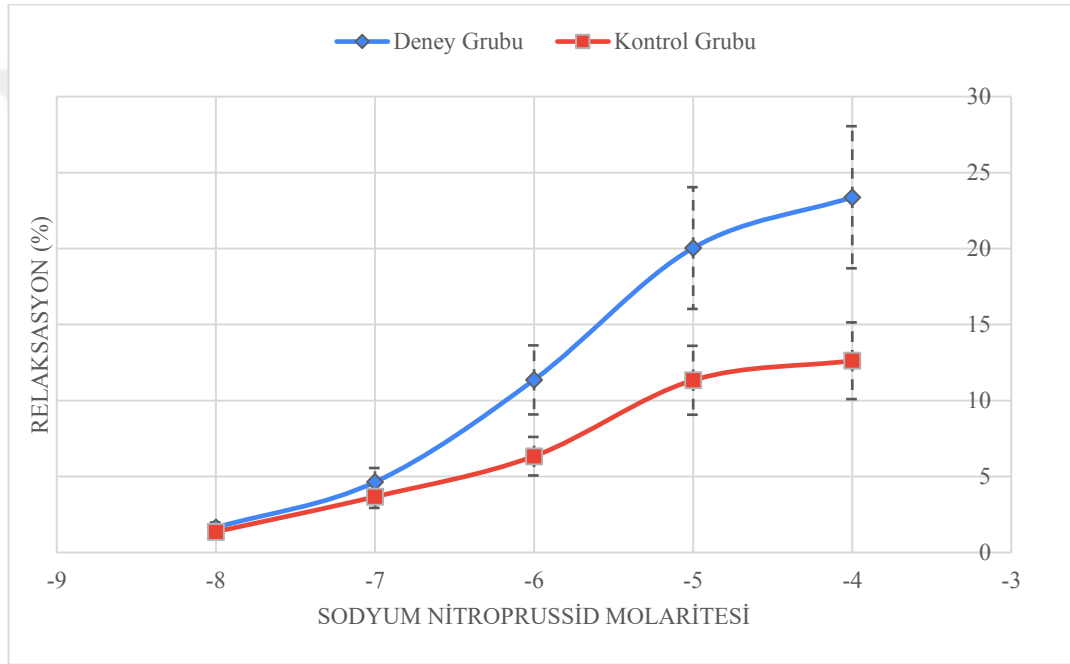


Şekil 4.1: Deney ve kontrol grupları maksimum vazokonstrüksiyon karşılaştırması

Bu karşılaştırmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi Tablo 4.2’de incelenebilir.

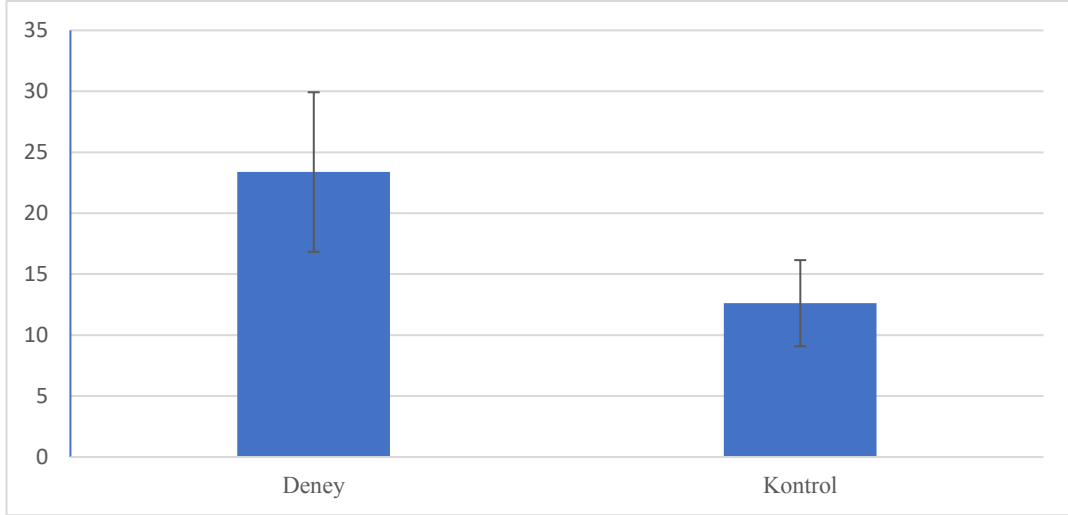
4.3. DENEY VE KONTROL GRUPLARI DOZ BAĞIMLI ENDOTEL BAĞIMSIZ RELAKSASYON KARŞILAŞTIRILMASI

Alınan damar ringlerinin organ banyosuna yerleştirilmesi ve dinlenim fazının tamamlanmasının ardından potasyum klorür ile vazokonstrüksiyon yanıtının ölçüldü ve noradrenalin ile maksimal duvar kontraksiyonunun sağlandı. Takibinde örnekler 45 dakika bekletildi ve dinlenim gerimine ulaşılması sağlandı, stabil gerime ulaştıkları zaman ölçülen gerim kayıt altına alındı. Ardından ardışık dozda 10^{-8} molar doz ile başlanarak takibinde ardışık dozlarda gliseril trinitrat eklenerek vasküler relaksasyon yanıtları kayıt altına alındı. Bu sonuçların dinlenim gerimine göre yüzdesel olarak düşüş miktarı hesaplandı. Bu sonuçlar standart sapmalar hata çubuğu olarak gösterilmiş olarak Şekil 4.2’de incelenebilir.



Şekil 4.2: Deney ve kontrol gruplarının relaksasyon yanıtları

Deney ve kontrol gruplarının maksimum vazokonstrüksiyon ve relaksasyon cevapları ortalamalarının ve verilerin bağımlı gruplar t testi ile karşılaştırılması ve analizi Şekil 4.3’de yer almaktadır.



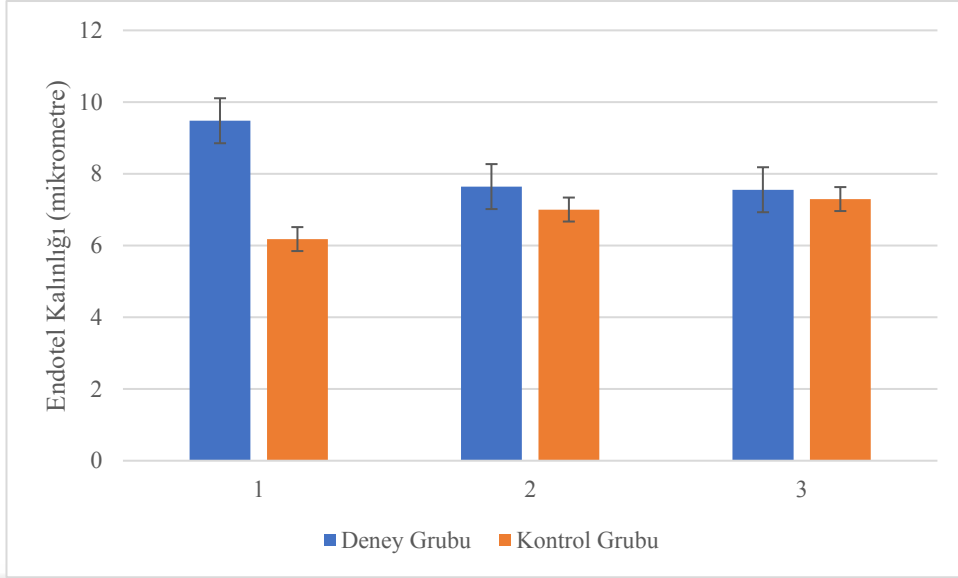
Şekil 4.3: Deney ve kontrol gruplarının yüzde cinsinden maksimum relaksasyon karşılaştırması

Tablo 4.2: Kontrol ve deney grubu örneklerin vazokonstrüksiyon ve relaksasyon yanıtlarının istatistiksel analizi

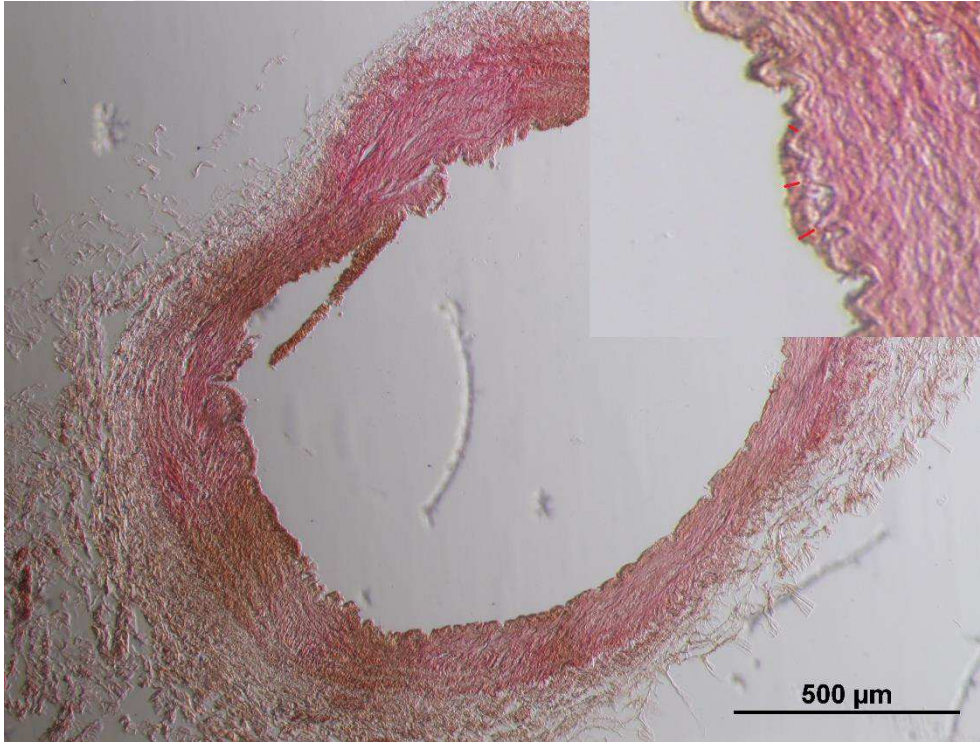
N=44	Kontrol n=22 (%50)	Deney n=22 (%50)	p
Örneklerin Bazal Gerim - Maksimum Vazokonstrüksiyon Oranı (%)			
Ortalama ±standart sapma	52,85830 (±54,765)	60,04367 (±54,794)	0,332
Örneklerin Maksimum Vazokonstrüksiyon – Dinlenim Sonrası Gerim Oranı (%)			
Ortalama ±standart sapma	9,78745 (±9,048)	27,49669 (±18,778)	0,001
Örneklerin Dinlenim Sonrası Gerim-Maksimum Relaksasyon Oranı (%)			
Ortalama ±standart sapma	12,61966 (±10,531)	23,37798 (±19,501)	0,006

4.4. DENEY VE KONTROL GRUPLARININ ENDOTEL KALINLIKLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

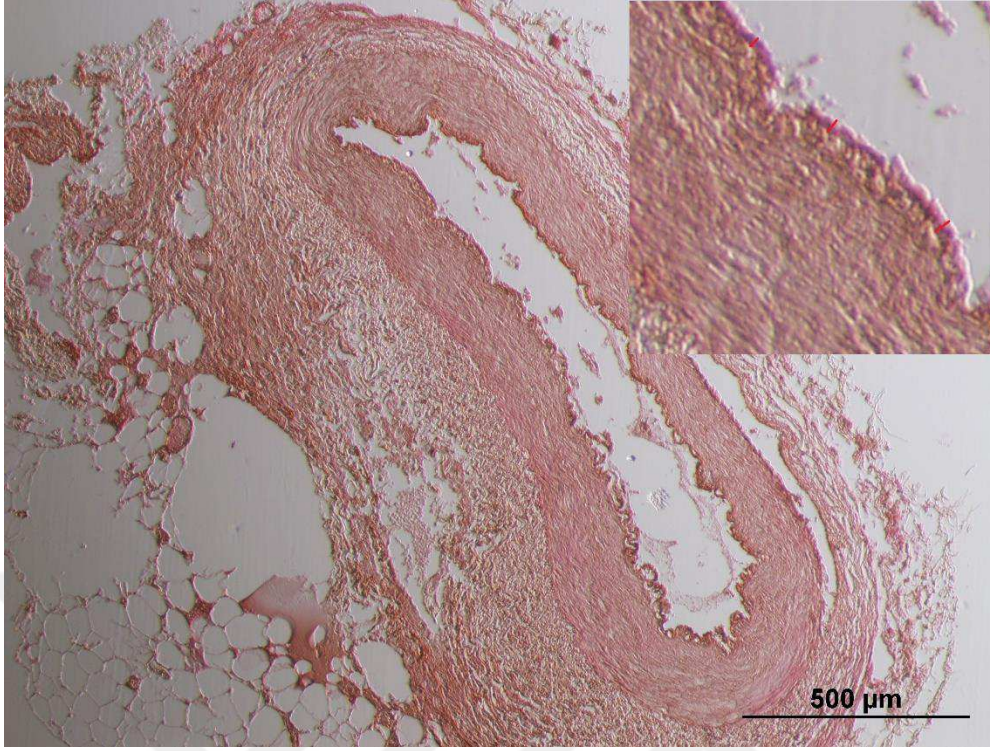
Deney ve kontrol gruplarından üçer örnekten alınan damar halkası kesitlerinin endotel kalınlığı açısından incelemesi standart sapma değerleri ile birlikte Şekil 4.4'te yer almaktadır. Örnek kesit fotoğrafları Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da görülebilir. Şekillerde sağ üst köşede yakın büyütmede ölçülen endotel kalınlıkları kırmızı renkli çubuklar ile gösterildi.



Şekil 4.4: Deney ve kontrol grubu kesitlerin endotel kalınlığı açısından karşılaştırılması



Şekil 4.5: Kontrol grubu kesitin hematoksilen eozin boyaması ile görünümü

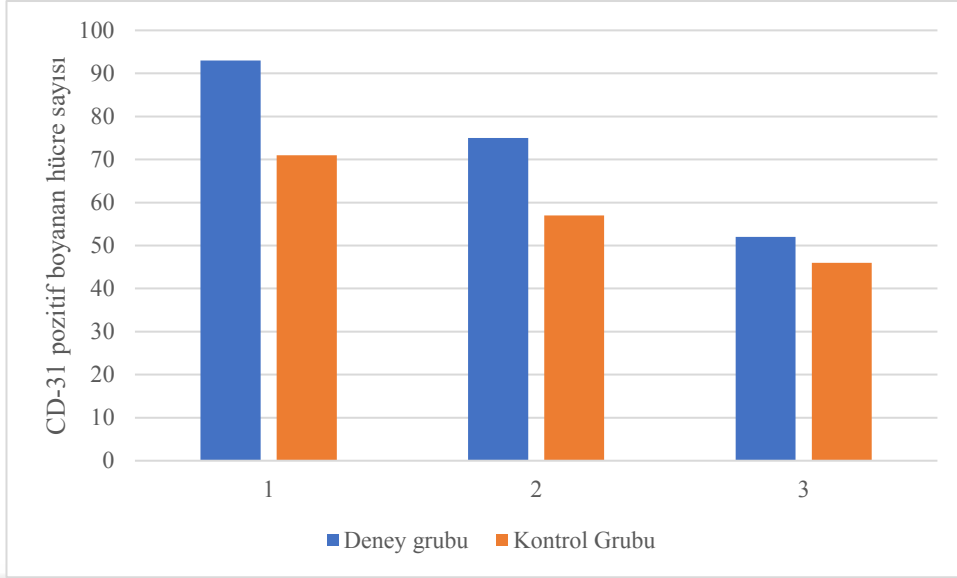


Şekil 4.6: Deney grubu kesitin hematoksilen eozin boyaması ile görünümü

Bu çalışmamızda deney grubu örneklerin ortalama endotel kalınlıkları 8,23 mikrometre, kontrol grubu örneklerin ortalama endotel kalınlıkları 6,82 mikrometre olarak hesaplanmıştır. Farklı kadranlardan alınan örneklerde ölçülen endotel kalınlıkları birbirleriyle t testi kullanılarak karşılaştırıldı ve p değerinin 0,004964 olarak hesaplanması anlamlı fark olarak yorumlandı.

4.5. DENEY VE KONTROL GRUPLARI ÖRNEKLERİN CD-31 YÜZEY ANTİJENLERİNİN İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA İLE TESPİTİ

Deney ve kontrol gruplarından üçer örnekten alınan damar halkası kesitlerinde bulunan hücrelerinde CD-31 yüzey antijeni bulunması için yapılan immünhistokimyasal çalışma sonucunda tespit edilen pozitif hücre sayıları Şekil 4.7’de yer almaktadır.

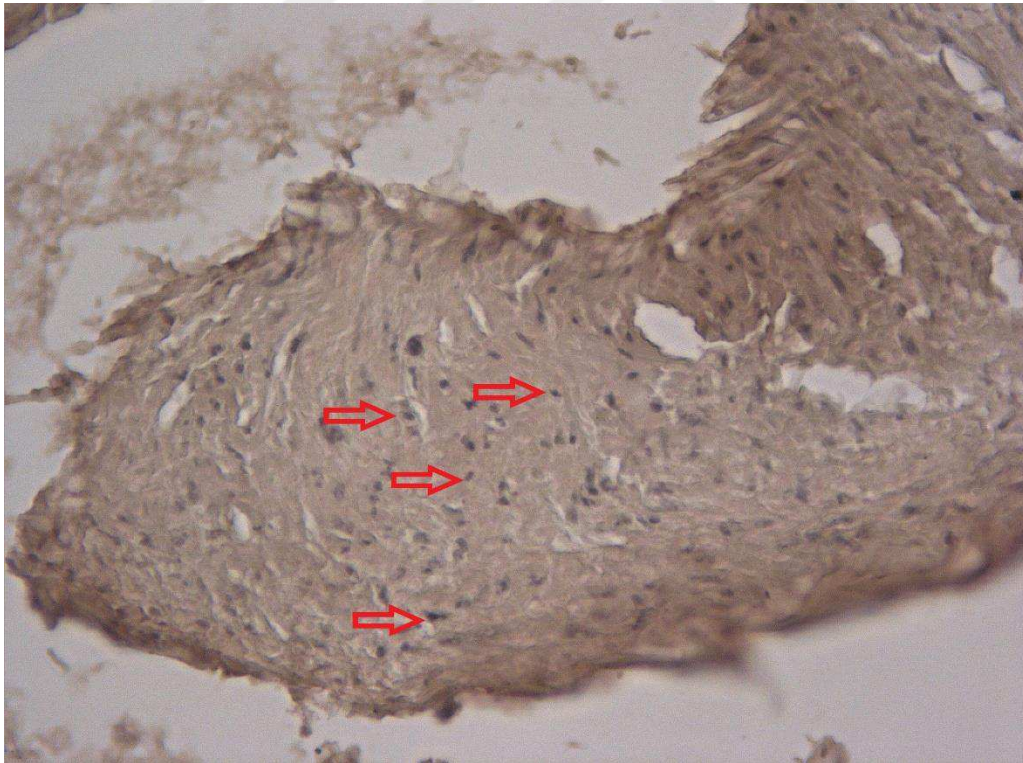


Şekil 4.7: Deney ve kontrol gruplarında CD-31 pozitif boyanan hücre sayılarının karşılaştırılması

Bu inceleme her iki gruptan alınan üçer örnek ile yapıldı. Deney grubu örneklerden rastgele seçilen 100x100 mikrometrelik beşer tane kesit alanlarında yapılan hücre sayımı sonucunda sırasıyla toplamda 93, 75 ve 52 adet CD-31 pozitif boyanan hücre, kontrol grubu örneklerde yapılan hücre sayımı sonucunda ise sırasıyla 71, 57 ve 46 adet CD-31 pozitif boyanan hücre tespit edilmiştir. Şekil 4.8’de ve Şekil 4.9’da deney ve kontrol gruplarından örnek görüntüler ve kırmızı ok işaretleriyle işaretlenmiş CD-31 pozitif boyanan hücre örnekleri incelenebilir. Yapılan bağımlı değişkenli t testinde $p=0,043$ saptandı.



Şekil 4.8: Kontrol grubu kesitin CD-31 immünohistokimyasal boyama görüntüsü



Şekil 4.9: Deney grubu kesitin CD-31 immünohistokimyasal boyama görüntüsü

5. TARTIŞMA

Dünya genelinde yılda 1.000.000'a yakın sayıda yapılan KABG'nin kısa ve uzun dönem başarısının artırılması için çok sayıda çalışma yapılmıştır ve günümüzde bu çalışmalar devam etmektedir. Greft koruma solüsyonları ile ilgili yapılan çalışmalar bu amaçla üretilen ticari preparatların artması ile son yıllarda sayıca artmış ve daha çok dikkat çekmeye başlamıştır.

Genel popülasyonda artan ortalama yaşam, tip-2 diyabetes mellitus oranı ve cerrahi tekniklerdeki gelişmeler nedeniyle cerrahlar yıllar geçtikçe daha ileri yaşta, daha kötü damar yapısı olan ve daha çok komorbid faktörü olan hastaların opere ediliyor olması, operasyon başarısı için daha yüksek greft kalitesi gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Benzer nedenlerden dolayı sıklıkla uygun greft seçenekleri az olan hastaların sayısı da artmaktadır.

Yapılan çalışmalar; kolay ulaşımı, erken dönemde greft açıklığı oranının yüksek olması ve yüksek volümde kan akımına izin vermesi gibi nedenlerden ötürü çok damar KABG operasyonlarında en yüksek oranda kullanılan greft olan VSM greftinin kalitesini ve uzun dönem açıklığını artırmak üzere yoğunlaşmıştır (43,45).

Bu konuda yapılan çalışmalarda ilk dönemlerde yapılan çalışmalarda subendotelyal ödemin kristaloid solüsyonlarda saklanan greftlerde arttığı gözlenmiş, bunun da endotel fonksiyonuna uzun dönemde kötü etkide bulunacağı ön görülmüştür (45). Bu durumunun nedeninin kristaloid solüsyonlarda saklanan greftlerde transmural geçişin artması ve iskemi reperfüzyon hasarının olduğu düşünülmüştür.

Santoli ve arkadaşları 1993 yılında solid organ nakillerinin artmaya başlamasıyla yıllarda organ saklama solüsyonu olarak geliştirilen, HTK solüsyonuna benzer içerikte olan WÜS ile papaverinli salin solüsyonu ve oksijenize ve heparinize otolog kan solüsyonlarının greft üzerine etkilerini araştırmış, sonuç olarak 30 dakikalık sonuçlarda papaverinli salin solüsyonu ve WÜS oksijenize ve heparinize otolog kana karşı daha üstün olduğu, 5 saatlik sonuçlarda da WÜS'un papaverinli salin solüsyonuna üstün olduğu gösterilmiştir (48).

Takip eden yıllarda VSM greftinin yapısının ve fizyolojik fonksiyonlarının korunması adına yapılan çok sayıda çalışmada da kolloid içerikli solüsyonların greft fonksiyonlarını koruma adına otolog kan ve kristaloid solüsyonlara göre daha başarılı olduğu gözlenmiştir (49,52,56).

Çalışmamıza başlarken araştırma sorusu olarak belirlediğimiz “vasküler greft koruyucu solüsyonlarının salin solüsyonuna göre sol internal mammaryan arterin endotel bütünlüğünün ve arter elastikiyetinin korunmasında kısa dönemde etkisi nedir?” sorusunu sormamızın amacı, İMA greftinin çoğunlukla in situ olarak

kullanılmasına rağmen rutin olarak cerrahi işlemin başlamasını takiben toraks duvarından bir flep ile ya da flepsiz şekilde ayrılması sonrası distal dolaşımı sonlandırılan, takibinde papaverin çözeltisi ve sıcak serum fizyolojik emdirilmiş bir spanç içinde 1-3 saat bekletilen bir greft olması nedeniyle bu greftin kristaloid sıvı içerisinde beklemesinin damar duvarı yapılarına olan etkisinin ne düzeyde olduğu ve proksimal bölgede olması muhtemel hasar sonrasında akımı kesilmiş, serbest olarak kullanılmasına karar verilen greftin nasıl saklanacağı konusunda mevcut bilgi birikimine katkıda bulunmaktı. Bu amaçla öncelikle in-vitro ortamda kristaloid sıvı ile kolloid içerikli bir greft koruma solüsyonunun etkilerini karşılaştırmayı planladık.

Oluşturduğumuz deney dizaynı literatürdeki diğer çalışmalar örnek olarak hazırlandı ancak insan İMA greftlerinden alınan örneklerle yaptığımız araştırma literatürde bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Ayrıca bu çalışmanın yalnızca İMA grefti prezervasyonu için değil serbest kullanılan arteriyel greftler için greft koruma solüsyonları açısından yapılacak çalışmalar için de bir öncül olmasını hedefledik.

Çalışmamızda kullandığımız solüsyon olan TiProtec, ven grefti koruma üzerine tasarlanmış potasyum klorid ve N-asetil histidin'den zenginleştirilmiş bir saklama solüsyonudur. 2011 yılında Wilbring ve arkadaşlarının safen ven greftlerinin endotelial vasküler fonksiyonlarının korunması üzerine salin solüsyonu ile karşılaştırmalı olarak yaptıkları çalışma ile tanınmaya başlayan solüsyon (52) Avrupa Birliği ülkelerinde greft koruma – taşıma solüsyonu olarak kullanım onayı aldı.

Tiprotec, temel olarak HTK solüsyonunun protektif kapasitesinin artırılmasını amaçlayan bazı modifikasyonlar ile geliştirilmiştir. Demir ile ilişkili doku hasarını önlemek için demir şelatörleri, histidin bağımlı toksisitenin engellenmesi için N-asetil histidin eklenmiştir. Bunlara ek olarak kardiyoprotektif aminoasitlerin eklenmesi (alanin, glisin, aspartat) ve potasyum konsantrasyonu artırılması ile protektif kapasitenin artırılması amaçlanmıştır (52,57,58).

2011'de Wilbring ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Tiprotec solüsyonunun salin solüsyonuna karşı koruyuculuğu 99 ven halkası örneğiyle duvar gerilimi kontraksiyon kinetikleri araştırılarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ortalama 90 dakika salin solüsyonunda saklanan örneklerde vasküler fonksiyonda Tiprotec grubuna göre ciddi düzeyde düşüş gözlenmiştir, bu nedenle salin solüsyonunun KABG cerrahisinde greft prezervasyonu için kullanılmasının gözden geçirilmesi önerilmiştir (52).

Wilbring ve arkadaşlarının bu çalışmadan 2 yıl sonra yayınladıkları çalışmada da yine salin solüsyonu ile Tiprotec solüsyonunun vazomotor fonksiyona etkilerinin 24 ve 96 saatlik sürelerde nasıl olduğu araştırılmış, Tiprotec solüsyonunun üstün çıkması üzerine transplantasyon cerrahilerinde ve doku bankalarında solüsyonun kullanım alanı olabileceği şeklinde yorum yapılmıştır (54). Yine bu çalışmalarda

greftlerin endotel hasarı da karşılaştırılmış ve bu karşılaştırmada da salin solüsyonu daha başarısız bulunmuştur (52,54).

Veres ve arkadaşları 2018 yılında yaptıkları hayvan deneyinde İMA greftinin reperfüzyon hasarına dayanıklılığını görmek üzere salin solüsyonu, HTK solüsyonu ve Tiprotec solüsyonlarında bekletilen greftleri serbest şekilde kullanarak aorta-sol ön inen arter baypası için kullanmış ve reperfüzyondan iki saat sonra greftlerin endotel fonksiyonlarını, histopatolojik görüntülerini ve gen ekspresyonu analizlerini yaparak incelemişlerdir. Çalışmada sonuç olarak uygun koruma solüsyonunda serbest olarak kullanılan İMA greftlerinin in-situ kullanılan greftlere benzer sonuçlar verebileceğini ve Tiprotec solüsyonunun bunun için uygun bir solüsyon olduğu çıkarımını yapmışlardır (58).

Garbe ve arkadaşları 2011 yılında aynı solüsyonu uzun süre saklama ve organ bankası için kullanma amacıyla HTK, %0,9 NaCl çözeltisi ve fizyolojik salin solüsyonu ile karşılaştırmış, Tiprotec solüsyonunun daha üstün olduğu ve 10 gün üzeri fonksiyon kaybı olmadan saklamaya uygun bulmuştur (57).

Tiprotec solüsyonunu Jeng ve Koulourikorneal greft saklanması için(59,60), Cooley ve arkadaşlarının ise saç transplantasyonu için yine greft saklama solüsyonu olarak kullanımı açısından araştırmaları (61) ve Messner ile arkadaşlarının vaskülarize doku greftlerinin soğuk iskemi ile saklanması konusundaki yazıları (62) literatürde dikkat çeken, solüsyonun alternatif kullanımlarına örnek çalışmalarır.

Çalışmamızda greftleri, greft yetmezliğinin erken dönemde en önemli nedeni olan vazospazm açısından incelenmek için standart KABG cerrahisinde uygulanan basamaklara yakın benzerlikte bir çalışma protokolü hazırlamaya önem gösterdik. Deneyler sonucunda edindiğimiz verilerden oluşturduğumuz analizde deney grubu örneklerin kontrol grubu örneklerle göre maksimum vazokonstrüksiyon cevabının oluşturulması sonrası dinlenim gerimine dönüşü, doz bağımlı ve maksimum relaksasyon cevabı açısından anlamlı derecede üstün olduğu (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,006$) gözlenmiştir.

Bu çalışmamız, NO ile indüklenen endotel bağımsız relaksasyon derecesinin ve greft canlılığını farklı solüsyonlarda kantitatif şekilde ortaya koyulması açısından önem taşımaktadır. Endotel bağımsız relaksasyon cevabının ölçülmesi vasküler iskeminin derecesinin belirlenmesi açısından güvenilir ve güçlü bir veridir (26).

Garbe ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı, temel olarak Tiprotec solüsyonunun uzun süreli doku saklama için güvenilirliğini ölçtükleri çalışmada 4 saatlik solüsyon maruziyeti sonrasında sodyum nitroprussid ile endotel bağımsız relaksasyonu değerlendirilmiş ve çalışmamıza benzer şekilde NaCl ve Tiprotec solüsyonu arasında maksimum endotel bağımlı relaksasyon açısından Tiprotec solüsyonu lehine anlamlı fark gözlenmiştir (57).

Daha önce de değindiğimiz Wilbring ve arkadaşlarının 2012 yılında safen greftleri üzerinde yaptıkları çalışmada da sodyum nitroprussid ile indüklenen endotel bağımsız relaksasyon cevabı değerlendirilmiş, Tiprotec grubunda ve NaCl grubunda sırası ile %88,8 $\pm$ 6,4 ve %61,3 $\pm$ 8,2 ($p=0,009$) olarak saptanmıştır (54). Çalışmamızdaki verilere göre daha yüksek oranda maksimum vazorelaksasyon tespit edilmesinin nedeninin örnek gösterilen çalışmada VSM greftinde çalışılması olduğu düşünülebilir. Yine Wilbring ve ekibinin yaptığı, 90 dakika fizyolojik salin solüsyonu ve Tiprotec solüsyonlarında bekletilen 19'ar adet örneğin karşılaştırıldığı çalışmada da sodyum nitroprussid ile indüklenen maksimum relaksasyon cevabı fizyolojik salin solüsyonu grubunda %77,4, Tiprotec solüsyonunda %90,2 olarak ölçülmüş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,12$) (52).

Kontrol ve deney grupları arasında oluşan bu anlamlı vazorelaksasyon farkının benzer çalışmalarda da belirtildiği üzere öncelikle iskemi reperfüzyon hasarı ve kristaloid solüsyonda transmural geçişin artması nedeniyle oluşan subendotelyal ödem nedeniyle oluşmuş olduğunu düşünmekteyiz. Subendotelyal ödemin farklı gruplarda ne derece olduğunu görmek için yaptığımız hematoksilen eozin ile boyanan kesitlerde deney grubunda ortalama endotel kalınlığının 8,23 mikrometre, kontrol grubunda ise 6.82 mikrometre kalınlığında ölçülmüş olması salin solüsyonunda bekleyen greftlerde endotelyal hasarın arttığının ve kolloid içerikli solüsyonların bu açıdan koruyucu olduğu savını desteklemektedir.

Literatürde yapılan çalışmaları incelediğimizde, endotel hücrelerine spesifik olan CD-31 olarak da bilinen platelet endotelyal hücre adezyon molekülünün (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule, PECAM-1) immünohistokimyasal olarak boyanmasının aktif endotel hücrelerinin gösterilmesi açısından tutarlı bir gösterge olduğunu gördük (63). Veres ve arkadaşlarının sıçan aortaları üzerinde yaptıkları endotel prezervasyon incelemesinde de CD-31 pozitif hücreler incelenmiş ve bizim çalışmamıza benzer şekilde Tiprotec solüsyonunda saklanan endotel dokularında salin solüsyonunda saklanan dokulara göre üstün sayıda CD-31 pozitif hücre tespit edilmiştir (58). Farklı solüsyonlarda yapılan çalışmalarda da vasküler iskemi ve reperfüzyon iskemisi durumunda PECAM-1 ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (64).

5.1 ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI

Çalışmamızın kısıtlılığı olarak gösterilebilecek bir nokta KABG operasyonu yapılacak insan greftlerinin distalinde kullanılmayan kısımların çalışma için kullanılmasıdır. Her ne kadar kullandığımız İMA parçaları greftin anastomoz yapılan kısmıyla komşu olsa da daha önce yapılan çalışmalarda İMA'nın 5. interkostal dalını verdikten sonraki kısmının reaktivitesinin daha yüksek olduğu ve kaslar regülatör bölgeye yakın olması (26) (Şekil 2.2) sebebiyle bu bölgenin vazokonstriksiyon cevabının diğer bölgelere göre daha yüksek olması benzer çalışmalara göre daha yüksek maksimum vazokonstriksiyon cevabı elde etmemizin nedeni olabilir. Aynı

şekilde vazorelaksasyon cevabının da bu bölgede diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu düşünülebilir.

Bir diğer kısıtlılık da standart yöntem ile saklanan İMA greftlerinin önce papaverin solüsyonuyla muamele edilmiş olmasıdır. Ancak kontrol ve deney gruplarının her ikisinin de aynı basamakları izlemiş olması nedeniyle oransal olarak yapılan karşılaştırma sonucunda anlamlı fark elde edilmiş olması önemlidir.

Çalışmamız in-vitro bir çalışma olduğu için klinik pratikte yaşanabilecek komplikasyonlar ve kullanım zorlukları açısından fikir veremeyebilir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ışığında en sık kullanılan arteriyel greft olan İMA greftinin, daha önce venöz greftlerde yapılan çalışmalara benzer şekilde, kolloid içerikli solüsyonlarda vazomotor fonksiyonunun daha üstün düzeyde korunduğu gözlenmiştir.

Yapılan vazomotor fonksiyon analizinin hemotoksilen eozin boyaması ile yapılan endotel değerlendirme ve PECAM-1 gen ekspresyonunu göstermek üzere yapılan CD-31 boyama sonuçları ile desteklenmesi ve bu değerlendirmelerin hepsinin birbirleri ile tutarlı şekilde kolloid içerikli solüsyonun üstünlüğünü göstermesi önem arz etmektedir.

Çalışmamız arteriyel greftlerde kolloid içerikli solüsyon kullanımı gerekliliği açısından tek başına yeterli kanıt oluşturmada da bu konunun daha yüksek volümde örneklerle ve in-vivo çalışmalar ile araştırılmasının önemini göstermektedir. Çalışmamızın arteriyel greftlerde de greft koruma solüsyonunun önemi açısından yapılacak çalışmalar için önemli bir kaynak olacağını, çalışmamızın ve bu konuda yapılacak gelecek çalışmaların greft kalitesini yükseltme açısından umut verici sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Winkler B, Reineke D, Heinisch PP, Schönhoff F, Huber C, Kadner A, et al. Graft preservation solutions in cardiovascular surgery. Vol. 23, Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery. Oxford University Press; 2016. p. 300–9.
2. Irlie A, Ameron C, Avis ABD, Eorge G, Reen G, Artzell H, et al. CORONARY BYPASS SURGERY WITH INTERNAL-THORACIC-ARTERY GRAFTS-EFFECTS ON SURVIVAL OVER A 15-YEAR PERIOD. Vol. 25, N Engl J Med. Massachusetts Medical Society; 1996.
3. Green GE. Rate of blood flow from the internal mammary artery. Surgery. 1971 Dec;70(6):809–13.
4. Chanda J, Canver CC. Reversal of preexisting vasospasm in coronary artery conduits. The Annals of Thoracic Surgery. 2001 Aug 1;72(2):476–80.
5. Nili M, Stamler A, Sulkes J, Vidne BA. Preparation of the internal thoracic artery by vasodilator drugs: Is it really necessary?. A randomized double-blind placebo-controlled clinical study. European Journal of Cardio-thoracic Surgery [Internet]. 1999 Nov 1 [cited 2021 Nov 28];16(5):560–3. Available from: <https://academic.oup.com/ejcts/article/16/5/560/472714>
6. Gao YJ, Stead S, Lee RMKW. Papaverine induces apoptosis in vascular endothelial and smooth muscle cells. Life Sciences. 2002 Apr 19;70(22):2675–85.
7. Watanabe G, Noda Y, Takagi T, Tomita S, Yamaguchi S, Kiuchi R. Fasudil Is a Superior Vasodilator for the Internal Thoracic Artery in Coronary Surgery. The Annals of Thoracic Surgery [Internet]. 2013 Aug 1 [cited 2021 Nov 28];96(2):543–7. Available from: <http://www.annalsthoracicsurgery.org/article/S0003497513008527/fulltext>
8. Mack MJ, Squiers JJ, Lytle BW, DiMaio JM, Mohr FW. Myocardial Revascularization Surgery: JACC Historical Breakthroughs in Perspective. Vol. 78, Journal of the American College of Cardiology. Elsevier Inc.; 2021. p. 365–83.
9. Moritz AR, Hudson CL, Orgain ES. AUGMENTATION OF THE EXTRACARDIAC ANASTOMOSES OF THE CORONARY ARTERIES THROUGH PERICARDIAL ADHESIONS. Journal of Experimental Medicine [Internet]. 1932 Dec 1 [cited 2021 Dec 14];56(6):927–31. Available from: <http://rupress.org/jem/article-pdf/56/6/927/1140428/927.pdf>
10. Dimond EG, Kittle CF, Crockett JE. Comparison of internal mammary artery ligation and sham operation for angina pectoris*. The American Journal of Cardiology. 1960 Apr 1;5(4):483–6.
11. Okada M. Transmyocardial laser revascularization (TMLR): a long way to the first successful clinical application in the world. Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery : Official Journal of the Association of Thoracic and Cardiovascular Surgeons of Asia [Internet]. 1998 Jun 1 [cited 2021 Dec 14];4(3):119–24. Available from: <https://europepmc.org/article/med/9660908>

12. Rozsival V. Outcome of Vineberg's operation after 31 years. *Heart* [Internet]. 2006 Aug 1 [cited 2021 Dec 14];92(8):1070–1070. Available from: <https://heart.bmj.com/content/92/8/1070>
13. Goetz RH, Rohman M, Haller JD, Dee R, Rosenak SS. INTERNAL MAMMARY-CORONARY ARTERY ANASTOMOSIS: A Nonsuture Method Employing Tantalum Rings. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1961 Mar 1;41(3):378–86.
14. Lytle BW, Loop FD, Cosgrove DM, Ratliff NB, Easley K, Taylor PC. Long-term (5 to 12 years) serial studies of internal mammary artery and saphenous vein coronary bypass grafts. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1985 Feb 1;89(2):248–58.
15. Loop FD, Lytle BW, Cosgrove DM, Stewart RW, Goormastic M, Williams GW, et al. Influence of the Internal-Mammary-Artery Graft on 10-Year Survival and Other Cardiac Events. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM198601023140101> [Internet]. 2009 Nov 16 [cited 2021 Dec 14];314(1):1–6. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM198601023140101>
16. Hlatky MA, Boothroyd DB, Reitz BA, Shilane DA, Baker LC, Go AS. Adoption and Effectiveness of Internal Mammary Artery Grafting in Coronary Artery Bypass Surgery Among Medicare Beneficiaries. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2014 [cited 2021 Dec 14];63:33–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2013.08.1632>
17. Neumann FJ, Sousa-Uva M, Ahlsson A, Alfonso F, Banning AP, Benedetto U, et al. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *European Heart Journal*. 2019 Jan 7;40(2):87–165.
18. Cunningham JM, Gharavi MA, Fardin R, Meek RA. Considerations in the Skeletonization Technique of Internal Thoracic Artery Dissection. *The Annals of Thoracic Surgery*. 54:947–50.
19. Cohn LH, Adams DH. *Cardiac Surgery in the Adult*. 2017 [cited 2021 Dec 15];1–1454. Available from: <https://lib.hpu.edu.vn/handle/123456789/32478>
20. Kouchoukos NT, Blackstone EH, Hanley FL, Kirklin JK. *Kirklin/Barratt-Boyes Cardiac Surgery* - Nicholas T. Kouchoukos, Eugene H. Blackstone, Frank L. Hanley, James K. Kirklin. 2013.
21. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Blaha MJ, et al. Executive summary: Heart Disease and Stroke Statistics - 2014 Update: A report from the American Heart Association. *Circulation* [Internet]. 2014 Jan 21 [cited 2021 Dec 15];129(3):399–410. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.cir.0000442015.53336.12>
22. Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Leischik R, Lucia A. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome. *Annals of Translational Medicine* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2021 Dec 15];4(13). Available from: </pmc/articles/PMC4958723/>

23. Balbay Y, Gagnon-Arpin I, Malhan S, Ergun Öksüz M, Sutherland G, Dobrescu A, et al. Original Investigation 235 Modeling the burden of cardiovascular disease in Turkey. 2018 [cited 2021 Dec 15]; Available from: www.anatoljcardiol.com
24. Hajar R. Risk Factors for Coronary Artery Disease: Historical Perspectives. *Heart Views : The Official Journal of the Gulf Heart Association* [Internet]. 2017 [cited 2021 Dec 15];18(3):109. Available from: [/pmc/articles/PMC5686931/](http://pmc/articles/PMC5686931/)
25. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update A Report from the American Heart Association. *Circulation*. 2021;E254–743.
26. He GW. Arterial grafting for coronary artery bypass surgery: Second edition. *Arterial Grafting for Coronary Artery Bypass Surgery: Second Edition*. 2006;1–356.
27. Paç M, Akçevin A, Aykut Aka S, Buket S, Sarioğlu T. *Kalp ve Damar Cerrahisi*. 2013.
28. Schmid C, Heublein B, Reichelt S, Borst HG. Steal Phenomenon Caused by a Parallel Branch of the Internal Mammary Artery. *The Annals of Thoracic Surgery*. 50:463–4.
29. He GW. Cautions on use of distal internal thoracic artery and its bifurcations. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2022 Feb 3];149(4):1050–1. Available from: <http://www.jtcvs.org/article/S0022522314022399/fulltext>
30. Marzouk M, Kalavrouziotis D, Grazioli V, Meneas C, Nader J, Simard S, et al. Long-term outcome of the in situ versus free internal thoracic artery as the second arterial graft. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2021 Dec 1;162(6):1744-1752.e7.
31. Veres G, Schmidt H, Hegedüs P, Korkmaz-Icöz S, Radovits T, Loganathan S, et al. Is internal thoracic artery resistant to reperfusion injury? Evaluation of the storage of free internal thoracic artery grafts. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2018 Oct 1;156(4):1460–9.
32. Gurevitch J, Kramer A, Locker C, Shapira I, Paz Y, Matsa M, et al. Technical aspects of double-skeletonized internal mammary artery grafting. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2000 Mar 1;69(3):841–6.
33. Acar C, Jebara VA, Portoghèse M, Fontaliran F, Dervanian P, Chachques JC, et al. Comparative anatomy and histology of the radial artery and the internal thoracic artery. *Surgical and Radiologic Anatomy* 1991 13:4 [Internet]. 1991 Dec [cited 2022 Feb 7];13(4):283–8. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01627759>
34. Calafiore AM, Teodori G, di Giammarco G, D’Annunzio E, Angelini R, Vitolla G, et al. Coronary Revascularization with the Radial Artery: New Interest for an Old Conduit. *Journal of Cardiac Surgery* [Internet]. 1995 Mar 1 [cited 2022 Feb 7];10(2):140–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1540-8191.1995.tb01232.x>
35. Cable DG, Mullany CJ, Schaff H v. The Allen test. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1999 Mar 1;67(3):876–7.

36. RADIAL ARTERY IN CORONARY BYPASS SURGERY: ANATOMICAL... - Google Akademik [Internet]. [cited 2022 Feb 7]. Available from: https://scholar.google.com/scholar?hl=tr&as_sdt=0%2C5&q=RADIAL+ARTERY+IN+CORONARY+BYPASS+SURGERY%3A+ANATOMICAL+LANDMARKS+AND+HARVESTING+TECHNIQUE&btnG=#d=gs_cit&u=%2Fscholar%3Fq%3Dinfo%3ATaU721aHxk4J%3Ascholar.google.com%2F%26output%3Dcite%26scirp%3D0%26hl%3Dtr
37. Standring S. Gray's anatomy e-book: the anatomical basis of clinical practice. 2021 [cited 2022 Feb 7]; Available from: <https://books.google.com/books?hl=tr&lr=&id=qlgAEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=periferal+vascular+anatomy+book&ots=smRdcGvrAr&sig=wopFjTEzJA8XNi aZYH2yzG3ihPY>
38. He GW. Verapamil plus nitroglycerin solution maximally preserves endothelial function of the radial artery: Comparison with papaverine solution. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1998 Jun 1;115(6):1321–7.
39. Attum AA. The Use of the Gastroepiploic Artery for Coronary Artery Bypass Graft: Another Alternative. *Texas Heart Institute Journal* [Internet]. 1987 Sep [cited 2022 Feb 10];14(3):289. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/324739/>?report=abstract
40. Jayakumar S, Gasparini M, Treasure T, Burdett C, Jozsa F, Padfield O, et al. How do surgeons decide? Conduit choice in coronary artery bypass graft surgery in the UK. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2022 Feb 7];29(2):179–86. Available from: <https://academic.oup.com/icvts/article/29/2/179/5382242>
41. Verma S, Lovren F, Pan Y, Yanagawa B, Deb S, Karkhanis R, et al. Pedicled no-touch saphenous vein graft harvest limits vascular smooth muscle cell activation: the PATENT saphenous vein graft study. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* [Internet]. 2014 Apr 1 [cited 2022 Feb 14];45(4):717–25. Available from: <https://academic.oup.com/ejcts/article/45/4/717/361560>
42. Feletou M, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. *British Journal of Pharmacology* [Internet]. 1988 [cited 2022 Feb 14];93(3):515. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1853853/>?report=abstract
43. Dumanski A, Sopel M, Pelczar M, Szłapka M, Kustrzycki W, Zabel M. Influence of Pressure on the Endothelium of the Saphenous Vein Coronary Artery Bypass Graft. *In Vivo* [Internet]. 2007 Sep 1 [cited 2022 Feb 17];21(5):785–9. Available from: <https://iv.iiarjournals.org/content/21/5/785>
44. Kurusz M, Christman EW, Derrick JR, Tyers GFO, Williams EH. Use of Cold Cardioplegic Solution for Vein Graft Distention and Preservation: A Light and Scanning Electron Microscopic Study. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1981 Jul 1;32(1):68–74.
45. Gundry SR, Jones M, Ishihara T, Ferrans VJ. Optimal preparation techniques for human saphenous vein grafts. *Surgery* [Internet]. 1980 Dec 1 [cited 2022 Feb 17];88(6):785–94. Available from: <http://www.surgjournal.com/article/003960608090313X/fulltext>

46. Wilbring M, Ebner A, Schoenemann K, Knaut M, Tugtekin SM, Zatschler B, et al. Heparinized blood better preserves cellular energy charge and vascular functions of intraoperatively stored saphenous vein grafts in comparison to isotonic sodium-chloride-solution. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2013;55(4):445–55.
47. Lawrie GM, Weilbacher DE, Henry PD. Endothelium-dependent relaxation in human saphenous vein grafts: Effects of preparation and clinicopathologic correlations. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1990 Oct 1;100(4):612–20.
48. Santoli E, di Mattia D, Boldorini R, Mingoli A, Tosoni A, Santoli C. University of Wisconsin solution and human saphenous vein graft preservation: preliminary anatomic report. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery : Official Journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery* [Internet]. 1993 Jan 1 [cited 2022 Feb 17];7(10):548–52. Available from: <https://europepmc.org/article/med/8267997>
49. Cavallari N, Abebe W, Mingoli A, Hunter WJ, Agrawal DK, Sapienza P, et al. Functional and Morphological Evaluation of Canine Veins Following Preservation in Different Storage Media. *Journal of Surgical Research*. 1997 Mar 1;68(2):106–15.
50. Weiss DR, Juchem G, Kemkes BM, Gansera B, Nees S. Extensive deendothelialization and thrombogenicity in routinely prepared vein grafts for coronary bypass operations: facts and remedy. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* [Internet]. 2009 [cited 2022 Feb 17];2(2):95. Available from: [/pmc/articles/PMC2719701/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2719701/)
51. Alexander JH, Hafley G, Harrington RA, Peterson ED, Ferguson TB, Lorenz TJ, et al. Efficacy and safety of edifoligide, an E2F transcription factor decoy, for prevention of vein graft failure following coronary artery bypass graft surgery: PREVENT IV: a randomized controlled trial. *JAMA* [Internet]. 2005 Nov 1 [cited 2022 Feb 17];294(19):2446–54. Available from: <https://europepmc.org/article/med/16287955>
52. Wilbring M, Tugtekin SM, Zatschler B, Ebner A, Reichenspurner H, Matschke K, et al. Even short-time storage in physiological saline solution impairs endothelial vascular function of saphenous vein grafts. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2022 Feb 17];40(4):811–5. Available from: <https://academic.oup.com/ejcts/article/40/4/811/447744>
53. Koch A, Loganathan S, Radovits T, Sack FU, Karck M, Szabó GB. Deferoxamine, the newly developed iron chelator LK-614 and N- α -acetyl-histidine in myocardial protection. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* [Internet]. 2010 Feb 1 [cited 2022 Feb 27];10(2):181–4. Available from: <https://academic.oup.com/icvts/article/10/2/181/644455>
54. Wilbring M, Tugtekin SM, Zatschler B, Ebner A, Reichenspurner H, Kappert U, et al. Preservation of endothelial vascular function of saphenous vein grafts after long-time storage with a recently developed potassium-chloride and n-acetylhistidine enriched storage solution. *Thoracic and Cardiovascular Surgeon*. 2013 Dec;61(8):656–62.
55. Freeman KA, Mao A, Nordberg LO, Pak J, Tallarida RJ. The relationship between vessel wall tension and the magnitude and frequency of oscillation in rat aorta. *Life Sciences*. 1994 Dec 30;56(6):PL129–34.

56. Wise ES, Hocking KM, Eagle S, Absi T, Komalavilas P, Cheung-Flynn J, et al. Preservation solution impacts physiologic function and cellular viability of human saphenous vein graft. *Surgery (United States)* [Internet]. 2015 Aug 1 [cited 2022 Feb 27];158(2):537–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.surg.2015.03.036>
57. Garbe S, Zatschler B, Mller B, Dieterich P, Ebner A, Rauen U, et al. Preservation of human artery function following prolonged cold storage with a new solution. *Journal of Vascular Surgery*. 2011 Apr;53(4):1063–70.
58. Veres G, Hegedus P, Barnucz E, Schmidt H, Radovits T, Zöller R, et al. TiProtec preserves endothelial function in a rat model. *Journal of Surgical Research*. 2015 May 8;200(1):346–55.
59. Koulouri I, Hellwinkel O, Altenähr S, Spitzer M, Fritz S, Feuerstacke J, et al. A new storage solution for the hypothermic preservation of corneal grafts: an experimental study. *Cell and Tissue Banking*. 2020 Sep 1;21(3):507–21.
60. Jeng BH. Preserving the cornea: corneal storage media.
61. Cooley JE. Optimal Graft Growth. Vol. 21, *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*. 2013. p. 449–55.
62. Messner F, Hautz T, Blumer MJF, Bitsche M, Pechriggl EJ, Hermann M, et al. Critical ischemia times and the effect of novel preservation solutions htk-n and tiprotec on tissues of a vascularized tissue isograft. *Transplantation*. 2017;101(9):e301–10.
63. Feng D, Nagy JA, Pyne K, Dvorak HF, Dvorak AM. Ultrastructural Localization of Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (PECAM-1, CD31) in Vascular Endothelium. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* [Internet]. 2004 Jun 26 [cited 2022 Mar 22];52(1):87–101. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/002215540405200109>
64. Korkmaz-Icöz S, Ballikaya B, Soethoff J, Kraft P, Sayour AA, Radovits T, et al. Graft Preservation Solution DuraGraft® Alleviates Vascular Dysfunction Following In Vitro Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Pharmaceuticals* 2021, Vol 14, Page 1028 [Internet]. 2021 Oct 9 [cited 2022 Mar 26];14(10):1028. Available from: <https://www.mdpi.com/1424-8247/14/10/1028/htm>

8. ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Muhammet Sefa Sağlam
Doğum yeri ve tarihi:
Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti
Medeni durumu: Bekar
İletişim adresi ve telefonu:
Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

Ankara Şehir Hastanesi – Kalp Damar Cerrahisi
Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi – Kalp Damar Cerrahisi
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Erzurum İbrahim Hakkı Fen Lisesi
Erzurum Sabancı İlköğretim Okulu

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

Doktor

IV- Mesleki Deneyimi

Ankara Şehir Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği – Asistan Doktor
Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği – Asistan Doktor
Erzurum Halk Sağlığı Müdürlüğü – Tortum Toplum Sağlığı Merkezi- Sorumlu Hekim

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türkiye Kalp Damar Cerrahisi Derneği
Ulusal Vasküler ve Endovasküler Cerrahi Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:

1. İşcan, H. Z., Ünal, E. U., Tümer, N. B., Akkaya, B. B., Aşkın, G., **Sağlam, S.**, ... & Mavioğlu, H. L. (2021). Funnel technique for wide infrarenal aneurysm neck with Lifetech Ankura™ Stent Graft System. *Turkish Journal of Thoracic and*

Cardiovascular Surgery, 29(3), 304.

2. Yiğit, G., Akkaya, B. B., Mungan, U., Erdoğan, K. E., Hasanzade, S., **Sağlam, M. S.**, ... & İşcan, H. Z. (2021). Influence of sex after elective thoracic endovascular aortic repair. *Turkish Journal of Vascular Surgery*, 30(3).
3. BUDAK, A. B., GÜNERTEM, E., KÜLAHÇIOĞLU, E., **SAĞLAM, M. S.**, LAFÇI, A., KARAHASANOĞLU, O., ... & GÜNAYDIN, S. Endovascular treatment of native aortic coarctation in adults: Two case reports and detailed review of the literature. *Turkish Journal of Clinics and Laboratory*, 11(5), 442-451.
4. Güler, S., **Sağlam, M. S.**, Yaşar, M. S., Özen, A., Ünal, E. U., & İşcan, H. Z. (2021). Endovascular aneurysm repair-related embolism treated by distal bypass: A challenging case report. *Turkish Journal of Vascular Surgery*, 30(1).

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Ödüller:

1. 19. Ulusal Vasküler ve Endovasküler Cerrahi Kongresi Poster Bildirisi İkincilik Ödülü, 2019

9. EKLER

9.1 EK-1 TEZ KONUSU ONAY FORMU

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı: Telefon: E-Posta:	Muhammet Sefa Sağlam
Uzmanlık Dalı:	Kalp ve Damar Cerrahisi
Eğitim Kurumu:	T.C. SBÜ ANKARA ŞEHİR HASTANESİ
Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi:	29/09/2016
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi:	20/10/2021
Program Yöneticisinin Adı Soyadı:	Prof. Dr. Ümit Kervan
Tez Danışmanının Adı Soyadı: Telefon: E-Posta:	Prof. Dr. Serdar Günaydın

*Araştırma/Tez Konusu (Study Title) Vasküler greft koruma solüsyonlarının sol internal mammarian arterin endotel bütünlüğünü ve elastikiyetini koruma üzerine kısa dönem etkilerinin in-vitro ortamda değerlendirilmesi
1-Araştırma Sorusu (Research problem) Vasküler greft koruyucu solüsyonlarının salin solüsyonuna göre sol internal mammarian arterin endotel bütünlüğünün ve arter elastikiyetinin korunmasında kısa dönemde etkisi nedir?
2-Arka Plan ve Gerekçe (Background/rationale) Vasküler greft koruyucu solüsyonlarının endotel bütünlüğünün ve vasküler tonusun korunmasında geleneksel olarak kullanılan salin solüsyonuna göre daha başarılı oluğu yurtdışında yapılan in-vivo ve in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak koroner by-pass cerrahisi sırasında altın standart greft olarak kullanılan otojen sol internal mammarian arterin endotel bütünlüğünün ve vasküler tonusunu koruması konusunda etkili olup olmadığı insan greftleri üzerinde gösterilmemiştir.
3-Araştırma amacı (Objectives) Vasküler greft koruma solüsyonlarının otojen sol internal mammarian arter greftinin endotel bütünlüğünü ve elastikiyetini koruma üzerine kısa dönem

etkilerinin in-vitro ortamda değerlendirerek bu konuda yapılabilecek in-vivo çalışmalar için hazırlık yapmak ve bu solüsyonların sol internal mammarian arter greftini koruyup koruyamadığının gösterilmesi
4-Hipotez (Hypothesis) Greft koruma solüsyonları sol internal mammarian arterin vasküler tonusunun ve endotel bütünlüğünün korunmasında salin solüsyonuna göre daha başarılıdır.
5-Araştırma türü/tasarım (Study Design) Bu araştırma deney ve kontrol grupları olan prospektif bir çalışmadır
6- Araştırma yeri (Study Setting/ Location) Ankara Şehir Hastanesi, Kalp Damar Hastanesi Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
7- Araştırmaya katılanlar/denekler (Study Population) Koroner bypass cerrahisi yapılması amacı ile sol internal mammarian arter grefti hazırlanan ve bu greftin anastomoz öncesinde kesilen distal kısmın 2 cm üzeri olan hastalar
8- Araştırmanın birincil ve ikincil sonuç değişkenleri (Primary and Secondary Outcome) Araştırmanın birincil sonuç değişkeni kontrol ve deney gruplarının duvar gerginliği ve endotel hasarının belirlenmesidir.
9- Araştırma Süreçleri (Study procedures) Araştırmaya Ankara Şehir Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi Kliniği'nde 2021 yılında koroner bypass cerrahisi yapıp sol internal mammarian arter grefti kullanılacak hastalar çalışmaya dahil edilecektir. Koroner bypass cerrahisi ameliyatında greft hazırlanması sırasında greft distalindeki operasyonda kullanılmayacak kısım 2 cm üzeri ise arter grefti çevre dokular ayrılıp iskeletize edilerek 1'er cm'lik kontrol ve deney grupları oluşturulması ve sonrasında kontrol grubu örneğin salin solüsyonuna, deney grubu örneğin ise TiProtec (Dr F Köhler Chemie, Bensheim, Germany) solüsyonuna yerleştirilerek 2 saat solüsyonlarda bekletilmesi, ardından her iki gruptan 0.5 cm'lik örneklerin ayrılması ve Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde dört kanallı Transducer Acquisition System (COMMAT TDA-10-A, COMMAT, Türkiye) miyograf cihazı ile önce bazal duvar gerginliği değerleri, ardından cihaz havuzuna noradrenalin eklenmesi ile endotel bağımlı ve endotel bağımlı olmayan relaksasyon cevaplarının tespit edilmesi planlandı. Solüsyonda kalan kontrol ve deney grubu parçalar ise 24 saat sonra CD-31 yüzey antijeni boyanmasının ardından endotel hasarının tespit edilmesi planlandı.

10-Örnek büyüklüğü ve istatistiksel güç (Sample size and statistical power) Literatürde sol internal mammarian arter grefti veya başka bir arteriyel greft için greft koruma solüsyonu etkinliğini araştıran yazı olmamakla birlikte kullanılacak olan ticari preparatın kullanıldığı safen ven ile ilgili yapılan benzer çalışma(52) dayanak alınarak yapılan güç analizinde %80 güç ve 0.05 hata payı ile 22’şer adet kontrol ve deney grubu oluşturulmasının anlamlı sonuç için yeterli olacağı öngörülmüştür.
11- İstatistiksel yöntemler (Statistical methods) Araştırma verilerinin istatistiksel analizleri için SPSS istatistik paket programı kullanılacaktır. İstatistiksel analiz olarak tanımlayıcı bulgular kısmına kategorik değişkenler sayı, yüzde verilerek sürekli değişkenler ise normal dağılan veriler için ortalama $\pm$ standart sapma ve normal dağılmayan veriler için ortanca ile sunulacaktır. Kategorik değişkenler için gruplar arasında sıklık bakımından fark olup olmadığı ise ki kare testleri kullanılarak karşılaştırılacaktır. Tanımlayıcı analizler normal dağılım göstermediği belirlenen parametreler için gruplar arasında Kruskal Vallis Varyans analizi testi kullanılarak karşılaştırılacaktır. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunan durumlarda farkın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için ikişerli karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirilecektir. Bu çalışmada istatistik anlamlılık düzeyi $p<0,005$ olarak kabul edilecektir.
12-Etik Öngörü (Ethical Considerations) Bu çalışma iyi klinik uygulama ilkelerine uygundur ve denek araştırma etik kuralları ile çelişmemesi planlanmıştır.
13- Anahtar kelimeler (Key words) Tiprotec, Greft koruyucu solüsyon

9.2 EK-2 ETİK KURUL ONAYI



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Ankara Şehir Hastanesi
I Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : E.Kurul –E1-21-1691

1691-no'lu çalışma

Ankara Şehir Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi Kliniği'nde yapılması planlanan "Vasküler greft koruma solisyonlarının sol internal mammarian arterin endotel bütünlüğünü ve elastikiyetini koruma üzerine kısa dönem etkilerinin in-vitro ortamda değerlendirilmesi" konulu çalışma incelenmiş olup, Etik açıdan oy birliğiyle uygun görülmüştür.

Etik Kurul Sekreterliği Üniversiteler Mah. Bilkent Cad. No:1 Çankaya/Ankara

İrtibat, Etik Kurul EKadıroğlu

Tel: 0 (312) 552 66 00

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Vasküler greft koruma safıtyonlarının sol internal mammarian arterin endotel bütünlüğünü ve elastikiyetini koruma üzerine kısa dönem etkilerinin in-vitro ortamda değerlendirilmesi			
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-			
	ETİK KURULUN ADI	Ankara Şehir Hastanesi 1 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu		
	AÇIK ADRESİ	Etik Kurul Sekreterliği Üniversiteler Mah. Bilkent Cad. No:1 Çankaya/Ankara		
	TELEFON	0312 552 66 00		
	FAKS	0312 552 99 82		
	E-POSTA	ankarash.etikkurulu@saglik.gov.tr		
BİLGİLER	KOORDİNATOR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Serdar Günaydın		
	KOORDİNATOR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Kalp Damar Cerrahisi		
	KOORDİNATOR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Şehir Hastanesi		
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	+		
	DESTEKLEYİCİ	+		
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	+		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİL CİSİ	+		
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐	
		FAZ 2	☐	
		FAZ 3	☐	
FAZ 4		☐		
Gözlemsel ilaç çalışması		☐		
Edisi cihaz klinik araştırması		☐		
İn vivo tıbbi cihaz çalışmaları yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐		
İlaç dışı klinik araştırması		☐		
Diğer ise belirtiniz: Anadil Çalışması (Dr. Muhammet Sefa Sağlam'ın izni)				
ARAŞTIRMAYA KATILIMIN ŞARTLARI	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSEL/ARASI ☐

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Vasküler greft koruma solüsyonlarının sol internal mammarian arterin endotel bütünlüğünü ve elastikiyetini koruma üzerine kısa dönem etkilerinin in-vitro ortamda değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÜVENLİLİK OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	PLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: E1/1691/2021	Tarih: 14.04.2021		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel açıdanca bulunulması teklifine ilişkin etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Yasküler greft koruma solüsyonlarının sol internal mammarian arterin endotel bütünlüğü ve elastisitesini koruma üzerine kısa dönem etkilerinin in-vitro ortamında değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
BASKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Hürrem BODUR					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki	Katılım *
Prof. Dr. Hürrem BODUR	Fof. Hist. ve KL Mikrobiyoloji	Ankara Şehir Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐ H ☒	E ☒
Prof. Dr. Süreyya BARUN	Tabii Farmakoloji	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐ H ☒	E ☒
Prof. Dr. Doğan İNÇİ	Tabii Onkoloji	Ankara Şehir Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐ H ☒	E ☒
Prof. Dr. Mehmet Numan ALP	Göz Hastalıkları	Ankara Şehir Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐ H ☒	E ☒
Prof. Dr. Birel KORUKLUOĞLU	Genel Cerrahi	Ankara Şehir Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐ H ☒	E ☐
Prof. Dr. Beirak Gülmüşkaya OCAK	Patoloji	Ankara Şehir Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐ H ☒	E ☒
Doç. Dr. Mehmet Salih KAYA	Fizyoloji	Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi	E ☒	K ☐	E ☐ H ☒	E ☐
Doç. Dr. Hayrettin Levent MAVIOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	Ankara Şehir Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐ H ☒	E ☒
Doç. Dr. Alkan Emre KAYIPMAZ	Acil Tıp	Ankara Şehir Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐ H ☒	E ☒
Doç. Dr. Hatice SELÇUK	Kardiyoloji	Ankara Şehir Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐ H ☒	E ☒
Doç. Dr. Seyhan YAGAR	Anestezi ve Reanimasyon	Ankara Şehir Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐ H ☒	E ☒
Doç. Dr. Hediye BEKTAŞ	Nöroloji	Ankara Şehir Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐ H ☒	E ☒
Çem. Dr. Dilek KANYILMAZ	Halk Sağlığı	Ankara Şehir Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐ H ☒	E ☐
Avukat Feriit BAŞDAS	Hukuk	Ankara Hukuk	E ☒	K ☐	E ☐ H ☒	E ☐
Cigdem KOC AMAN	Mühendislik	Ankara Hukuk	E ☐	K ☒	E ☐ H ☒	E ☐

* Toplantıda Bulunma