



T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**SAFEN VENİN GREFT OLARAK HAZIRLANMASINDA  
GELİŞEN HASARDA mTOR AKTİVASYONUNUN  
BİYOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Hasan CİHAN  
UZMANLIK TEZİ**

**Mersin - 2024**



T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**BIOCHEMICAL EVALUATION OF mTOR ACTIVATION IN  
DAMAGE OCCURRING DURING THE PREPARATION  
OF THE SAPHENOUS VEIN AS A GRAFT**

**Dr. Hasan CİHAN  
UZMANLIK TEZİ**

**Danışman  
Öğr. Üyesi Prof. Dr. Nehir SUCU**

Bu araştırma MEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2023-1-TP3-4806 sayı ile desteklenmiştir.

**Mersin -2024**

## TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim süresinde, tez proje hipotezinin kurulmasında, laboratuvar çalışmalarının yapılmasında ve tezimin yazılmasında desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Nehir SUCU'ya;

Uzmanlık eğitimim boyunca tecrübelerini benimle paylaşan ve her daim yanımda olan değerli hocalarım; Prof. Dr. Murat ÖZEREN'e, Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir BİLGİÇ'e, Prof. Dr. Barlas Naim AYTAÇOĞLU'na, Dr. Öğr. Üyesi Eren Oral KALBİSAĞDE'ye ;

Tez çalışmam için maddi kaynak sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna;

Laboratuvar çalışmalarımda desteğini ve bilgilerini esirgemeyen Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof.Dr. Seyhan Şahan FIRAT ve Dr. Öğr. Üyesi Meryem Temiz REŞİTOĞLU'na; Histoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Şakir Necat YILMAZ ve Dr. Arş.Gör. Hatice Oruç DEMİRBAĞ'a. İstatistiksel çalışmamızı gerçekleştiren Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Elif ERTAŞ'a;

Çalışma ve eğitim sürecimde manevi desteğini ve tecrübesini esirgemeyen yol arkadaşım Op. Dr. Burak TOPRAK'a;

Numunelerin hazırlanıp transferine yardımcı olan Dr.Soner KUMCU, Dr. Menaf Akın SERT'e; ameliyathane çalışanları Selver Ünlü BAYAR ve Zekeriye GÜDEROĞLU'na ; bu süreçte Kalp ve Damar Cerrahisi kliniğinde staj yapmış tüm İntörn Doktor arkadaşlarıma;

Hayatıma anlam katan, her daim yanımda olan annem, babam ve kardeşlerime;

Sevgi, saygı ve tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
ABSTRACT	7
1. GİRİŞ VE AMAÇ	9
2. GENEL BİLGİLER	12
2.1. Koroner Arter Bypass Cerrahisi	12
2.2. Safen Ven Grefti	13
2.2.1. Büyük Safen Ven Anatomisi	13
2.2.2. BSV Histolojisi	14
2.2.3. Safen Venin Greft Olarak Hazırlanması	15
2.3. Safen Ven Greft Yetmezliği	16
2.3.1. Safen Ven Greft Yetmezliği Patofizyolojisi	17
2.3.1.1. Akut Dönem: Mekanik Hasar ve Oksidoinflamatuvar Değişiklik	17
2.3.1.2. Erken Dönem: Tromboz ve İntimal Hiperplazi	19
2.3.1.3. Geç Dönem: Ateroskleroz ve Rüptür	21
2.4. mTOR ve Kompleksleri	22
2.4.1. mTOR Komplekslerinin Fizyolojik Rolü	23
2.4.2. Patofizyolojide mTOR	24
2.4.3. Kardiyovasküler Sistem ve mTOR	27
2.4.4. mTOR'un İnflamasyon ve Oksidatif Stres İle İlişkisi	28
2.5. mTOR İnhibitörleri ve Kullanım Alanları	29
2.5.1. İlaç Salınımlı Stent (DES) Teknolojisinde Limus Bazlı İlaçlar	31
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	33
3.1. Araştırmanın Tipi	33
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı	33
3.3. Çalışmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları	33
3.4. Araştırma Materyali	34
3.5. Çalışmanın Değişkenleri	34
3.6. Veri Toplama Araçları	35
3.6.1. Hasta Sayısının Belirlenmesi	35
3.6.2. Hasta Seçimi	35

3.6.3. Cerrahi Hazırlık ve Numunelerin Saklanması	35
3.7. Biyokimyasal Çalışma (mTOR Çalışması)	37
3.7.1. Materyal	37
3.7.1.1. Sarf Malzemeleri	37
3.7.1.2. Teçhizat	38
3.7.2. Yöntem	38
3.7.2.1. Dokuların Homojenize Edilmesi ve Doku Homojenatı Süpernatantlarının Hazırlanması	38
3.7.2.2. Doku Homojenatlarından Hazırlanan Süpernatantlarda Toplam Protein Düzeyinin Belirlenmesi	39
3.7.2.3. Doku Homojenatlarından Hazırlanan Süpernatantlarda mTOR düzeylerinin ölçülmesi	39
3.8. Histopatolojik İncelemeler	39
3.8.1. Dokuların Elde Edilişi ve Doku Takibi	39
3.9. Araştırmanın Planı ve Takvimi	41
3.10. Veri Toplama Araçlarının Değerlendirilmesi	42
3.11. Araştırmanın Sınırlılıkları	42
3.12. Etik Kurul Onayı	42
4. BULGULAR	44
4.1. Hasta Tanımlayıcı Bulguları	44
4.2. Biyokimyasal / mTOR Çalışma Bulguları	45
4.2.1. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	46
4.3. Histopatolojik İnceleme Bulguları	46
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ	54
7. KAYNAKLAR	55
8. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	63
9. TABLOLAR DİZİNİ	65
10. ŞEKİLLER DİZİNİ	66
11. RESİMLER DİZİNİ	67

## ÖZET

### SAFEN VENİN GREFT OLARAK HAZIRLANMASINDA GELİŞEN HASARDA mTOR AKTİVASYONUNUN BİYOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

**Amaç:** Koroner bypass cerrahisinde greft olarak yaygın kullanılan büyük safen venlerin açık kalma oranları, operasyonel başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Postoperatif ven greft yetmezliğinin etyolojileri arasında, ven greft hazırlığı sürecinde başlayan endotelial kayıp ve oksidoinflamatuvar değişiklikler yer almaktadır. Güncel literatür bilgileri ışığında, hücre içi bir sinyal molekülü olan mTOR'un (rapamisin'in memeli hedefi) bu oksidatif ve inflamatuvar süreçlerde rol oynadığını düşündük. Ven greft hazırlığı işleminden önce alınan safen venler ile işlem sonrası alınan safen venlerin mTOR protein ölçümlerini yaptık ve karşılaştırdık. Amacımız, ven greft yetmezliği patofizyolojisinin anlaşılmasına katkıda bulunmak ve mTOR inhibitörleri ile bu sorunun önüne geçilebilecek çalışmaların yolunu açmaktır.

**Yöntem:** Dahil edilme ve dışlama kriterlerini karşılayan 44 koroner bypass cerrahisi uygulanacak hasta seçildi. Aynı ekip tarafından safen ven hazırlığı işlemi uygulanan hastalardan işlem öncesi ve işlem sonrası olmak üzere 2 cm'lik safen ven numuneleri alındı. Aynı parçalardan, ışık mikroskopisi incelemesi için de 1 cm'lik numune alındı. Biyokimya numuneleri -80°C'de muhafaza edildi. Doku homojenatı süpernatantlarının hazırlanmasında daha önce tanımlanan yöntemler kullanıldı<sup>76</sup> ve hazırlanan süpernatantlarda toplam protein düzeyi Bradford yöntemi ile ölçüldü<sup>77</sup>. mTOR düzeyleri, uygun kit kullanılarak prospektüslerinde belirtildiği biçimde ELISA yöntemi ile ölçüldü. mTOR protein düzey ölçüm ortalamalarının işlem öncesi ve işlem sonrası olarak değerlendirilmede paired t test istatistiği kullanıldı.

**Bulgular:** Koroner bypass cerrahisi için işleme başlamadan önce alınan manipüle edilmemiş safen venin mTOR(ng/ml/mg protein) ortalama ve standart sapma değeri  $7.02 \pm 2.51$  iken, işlem sonrası alınan safen venin mTOR (ng/ml/mg protein) ortalama ve standart sapma değeri  $7.51 \pm 2.78$  idi . İşlem öncesi ve sonrası mTOR (ng/ml/mg protein) ölçüm ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0.41 > 0.05$ ).

**Sonuç:** Açık cerrahi ven greft hazırlığından geçen safen venlerdeki mTOR değerlenlerinde, işlem öncesi değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmedi. Bu veriye göre, mTOR aktivasyonunu ölçebilmek için 1 saatlik işlem süresinin yetersiz kaldığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** mTOR, ven greft yetmezliği, büyük safen ven, koroner bypass, endotel hasarı



## ABSTRACT

### BIOCHEMICAL EVALUATION OF mTOR ACTIVATION IN DAMAGE OCCURRING DURING THE PREPARATION OF THE SAPHENOUS VEIN AS A GRAFT

**Objective:** In coronary bypass surgery, the patency rates of large saphenous veins, which are commonly used as grafts, are one of the most important factors affecting operational success. Among the etiologies of postoperative vein graft failure are endothelial loss and oxidative-inflammatory changes that begin during the vein graft preparation process. In light of current literature, we hypothesized that mTOR (mammalian target of rapamycin), an intracellular signaling molecule, plays a role in these oxidative and inflammatory processes. We measured and compared mTOR protein levels in saphenous veins taken before and after the vein graft preparation procedure. Our goal is to contribute to the understanding of the pathophysiology of vein graft failure and to pave the way for studies that could prevent this issue using mTOR inhibitors.

**Method:** Forty-four patients, who met the inclusion and exclusion criteria, were selected for coronary bypass surgery. For these patients, who underwent saphenous vein preparation by the same team, 2 cm saphenous vein samples were taken before and after the procedure. Additionally, 1 cm samples were taken from the same pieces for light microscopy examination. Biochemical samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . The preparation of tissue homogenate supernatants used previously described methods<sup>76</sup>, and the total protein levels in the prepared supernatants were measured using the Bradford method<sup>77</sup>. mTOR levels were measured using an appropriate kit and the ELISA method as described in the product literature. Paired t-test statistics were used to evaluate the average mTOR protein level measurements before and after the procedure.

**Results:** For coronary bypass surgery, the mean and standard deviation of mTOR (ng/ml/mg protein) in the unmanipulated saphenous veins taken before the procedure were  $7.02 \pm 2.51$ , while those in the saphenous veins taken after the procedure were  $7.51 \pm 2.78$ . There was no significant difference between the pre- and post-procedure mTOR (ng/ml/mg protein) measurement averages ( $p=0.41 > 0.05$ ).

**Conclusion:** In saphenous veins that underwent open surgical vein graft preparation, no statistically significant increase in mTOR values was observed compared to pre-procedure values. Based on this data, it was concluded that a 1-hour procedure duration is insufficient to measure mTOR activation.

**Key Words:** mTOR, vein graft failure, great saphenous vein, coronary bypass, endothelial damage



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Aterosklerotik koroner arter hastalığı gelişmiş ülkelerde morbidite ve mortalitenin en önemli nedenidir. Dünyada yılda bir milyondan fazla insan koroner kalp hastalığından hayatını kaybetmektedir<sup>1</sup>. Koroner arter hastalığında, miyokardın revaskülarize edilmesine yönelik cerrahi girişim etkili ve uzun süreli bir çözümdür<sup>2</sup>. Ancak en büyük sorun; bypass grefti olarak internal mammarian arter (İMA) ile beraber kullanılan büyük safen vende (BSV), erken dönemde başlayan intima harabiyetinin trombüs ve uzun vadede ateroskleroz ile sonlanmasıdır<sup>3</sup>.

1968 senesinde Favoloro'nun çalışmaları, koroner arter bypass greft (KABG) cerrahisinde BSV kullanımını standart haline getirmiştir<sup>4</sup>. BSV uzun olması, seri çıkarılabilmesi, hazırlanmasının kolay olması ve spazmdan az etkilenmesi gibi özelliklerinden dolayı KABG cerrahisinde halen en sık kullanılan olog grefttir. Greftin hazırlanma aşamasında oluşabilecek intimal hasar, tromboza neden olarak erken dönemde greft yetmezliğine yol açabilir<sup>5,6</sup>. KABG'den sonraki ilk yılda greft olarak kullanılmış BSV'lerin %15'i oklüde olurken, bu oran 10 yıl sonra %50-60'a çıkmaktadır<sup>7</sup>.

BSV, greft olarak hazırlıktan bypass aşamasına kadar cerrahi manipülasyonlara, hipoksiye ve basınca maruz kalmaktadır. Cerrahi literatür; ven greftinin hazırlığı ile ilişkili vazo vazorumun bozulması, endotel hasarı ve tunika medyanın da dahil olduğu histolojik ve morfolojik değişikliklere yeterince odaklanmıştır<sup>8</sup>. Biyokimyasal çalışmalar ise, safen venin greft olarak hazırlığında damar duvarında Nitrik Oksit Sintaz (NOS) kaynaklarının azaldığını, reaktif oksijen ürünlerinin arttığını göstermektedir. Oksidatif stresin damar greftinde fonksiyon bozukluğuna neden olduğu öne sürülür<sup>21,22</sup>. Ayrıca hazırlık sonrası incelenen safen ven greftlerinde; adezyon moleküllerinin ve inflamatuvar belirteçlerin yukarı yönde regüle olduğu görülmüştür. Bu regülasyonun safen venin intraoperatif distansiyonundan kaynaklandığı düşünülmüştür<sup>23</sup>.

1964 yılında Güney Pasifik'teki Rapa Nui Adası'na (Paskalya Adası olarak da bilinir) Kanadalıların düzenlediği bir bilimsel keşif gezisinde, yeni antimikrobiyal ajanlar tespit etmek amacıyla bir dizi toprak numunesi toplanmıştır. Bu örneklerden birinden izole edilen bakterilerde, Sehgal ve

meslektaşları kayda değer antifungal, immünosupresif ve antitümör özelliklere sahip bir bileşik keşfetmiştir. Keşfedildiği yerden dolayı rapamisin (klinikte sirolimus olarak bilinir) olarak isimlendirilmiştir. Bu bileşik, peptidil-prolil-izomeraz FKBP12 (takrolimus bağlayıcı proteinler) ile kompleks oluşturmakla aktif duruma geçmektedir. Hücre büyümesi ve çoğalması için gerekli iletim yollarını bloke ederek etkisini göstermektedir<sup>9</sup>. Rapamisinin hedef mekanizması, mTOR'un Rapamisin Memeli Hedefi olarak tanımlandığı 1994 yılına kadar anlaşılammıştır<sup>9</sup>. mTOR, 289 kDa molekül ağırlığında bir serin/treonin protein kinazdır. Farklı komplekslerle birlikte hücre büyümesi, proliferasyonu ve canlılığının yanı sıra translasyonel ve transkripsiyonel olayların düzenlenmesi, ribozom biyogenezi, otofaji, glukoz metabolizması, hipoksiye karşı verilen hücresel yanıt, hücre yaşamı ve hücre iskeleti organizasyonu gibi önemli biyolojik süreçlerde rol oynayan hücre içi bir sinyal molekülüdür. mTOR'un, miyokardın yapı ve metabolizmasının düzenlenmesinde, fizyolojik vasküler işlevlerde, böbrek fonksiyonlarında rol oynaması bu enzimi kardiyovasküler ve renal patolojilerde önemli bir hedef haline getirmiştir<sup>10</sup>.

Oksidatif stresin simüle edildiği çeşitli çalışma modellerinde mTOR'un oksidatif stresten hem etkilendiği, hem de oksidatif stresi düzenlediği gösterilmiştir. Genetik yaklaşım ya da farmakolojik yollarla inhibisyonunun nitrik oksit üretiminde iyileşme ve organ düzeyinde antioksidan etkiler gösterdiği açıkça bilinmektedir<sup>11,12,13,14</sup>. Aynı zamanda mTOR'un sistemik ve kardiyak inflamasyona katkıda bulunduğu dair kanıtlar literatürde mevcuttur. Bu inflamasyonun etkilerinin tersine çevrilmesi, mTOR inhibitörü Rapamisin ile hedeflenir<sup>10,15</sup>.

Oksidatif stres ve sistemik inflamasyonda mTOR yolunun etkisi bilinmesine rağmen yaptığımız literatür taramasında, safen venin greft olarak hazırlığında meydana gelen değişikliklerin mTOR ile ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. Ancak Rapamisin ve türevlerinin; koroner arter hastalıklarında, ilaç kaplı stentlerde yaygın kullanıldığını ve stent açıklığındaki önemli rolü olduğunu bilmekteyiz. Biz de burdan yola çıkarak otolog bir greft olan ve KABG'de yaygın olarak kullanılan safen venlerin hazırlanma aşamasının öncesi ve sonrasında mTOR aktivasyonundaki artışı biyokimyasal olarak göstermeyi amaçladık. Ayrıca endoteldeki histopatolojik değişiklikleri ışık mikroskopik incelemeyle çalışmamıza ekledik.

Çalışmamızın gelecekte, ven greft yetmezliğine götüren bu oksidoinflamatuvar sürecin önüne geçmek üzere, mTOR inhibitörlerinin kullanılabileceğine dair yeni çalışmaların önünü açmasını ümit ediyoruz.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Koroner Arter Bypass Cerrahisi

Koroner arter hastalığının tedavisinde son yıllarda medikal ve perkütan koroner girişimlerde öne çıkan gelişmeler olsa da KABG cerrahisi günümüzde önemini korumaktadır<sup>16</sup>. 1964'de Garrett ve arkadaşları tarafından ilk kez bir insana safen ven grefti ile aortokoroner bypass yapılmış ve sonrasında Favaloro'nun öne çıkan çalışmalarıyla iskemik kalp hastalığında cerrahi revaskülarizasyon dönemi başlamıştır<sup>17</sup>.

KABG, dünya genelinde yılda gerçekleştirilen 600.000'den fazla ameliyat ile kalpte gerçekleştirilen en yaygın cerrahi işlemdir. Rutin uygulanmasından bu yana sol ana koroner ve çoklu lezyona sahip koroner arter hastalarının büyük bölümünde altın standart tedavi olmaya devam etmektedir. Ayrıca, uzun takip verileriyle üzerine en kapsamlı çalışılan cerrahi işlemlerden biridir<sup>18</sup>. Günümüzde tüm dünyada yaklaşık %80 oranında uygulanan yöntem kardiyopulmoner bypass pompası ile gerçekleştirilmektedir(on-pump). Geri kalan ameliyatlarda çalışan kalpte yapılmaktadır (off-pump). Minimal invaziv yöntem ise her iki teknikte uygulanabilen bir yaklaşımdır<sup>19</sup>.

Tüm dünyada KABG çalışma gruplarının ulusal ve uluslararası sonuçlarına göre, orta ve yüksek riskli hastalarda KABG'nin medikal tedaviden daha iyi olduğu gösterilmiştir. Literatüre daha sonraki yıllarda perkütan koroner girişim uygulamaları girmiştir. İlk dönemlerde KABG sonuçları Perkütan Translüminal Koroner Anjiyoplasti (PTCA)'ye göre daha iyi iken; son gelişmelerle PTCA sonuçları da en az KABG kadar iyi duruma gelmiştir. Fakat birçok merkezde sol ana koroner, çoklu damar, kötü ventrikül ve diyabetik koroner arter hastalarında KABG halen ilk seçenek olarak yerini korumaktadır<sup>20,21</sup>. Varılan sonuçlar, KABG'nin uzun yıllar vazgeçilemeyecek bir seçenek olduğunu göstermektedir.

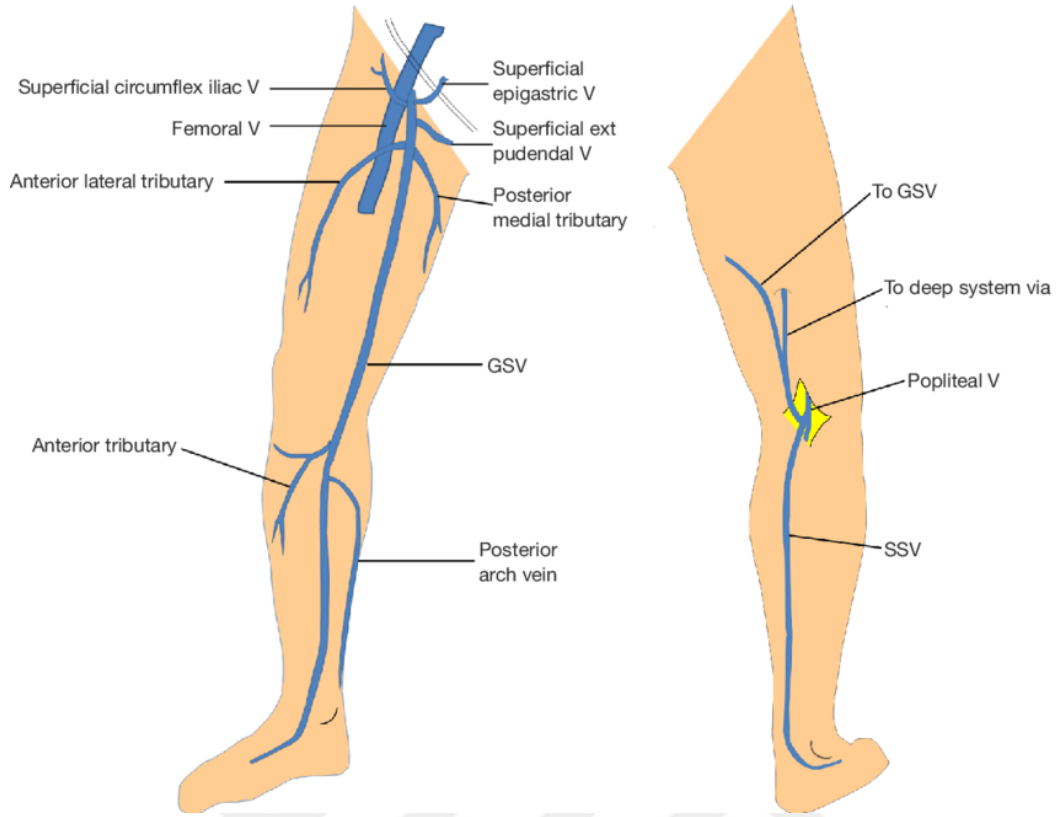
KABG'de yaklaşımlar değişse de; İMA yanında kullanılan greftlerden, BSV ilk seçenek olarak yerini korumaktadır. Radyal arter, gastroepiploik arter, inferior epigastrik arter gibi arteriyel greftlerin ise kullanımı belirli merkezlerle sınırlı kalmaktadır. Buna karşın KABG'de tam revaskülarizasyon için vakaların %80'den fazlasında BSV kullanımı gerekmektedir<sup>22</sup>. BSV'nin kolay elde

edilmesi, uzun olması, geliştirilen uygulama ve ilaçlarla (ikili antiagregan, statin tedavisi, soğuk ven koruma solüsyonları gibi) greft açıklık oranının yüksek kalması; İMA yanında BSV'nin ilk tercih olmasında önemli rol oynamaktadır<sup>29</sup>.

## **2.2. Safen Ven Grefti**

### **2.2.1. Büyük Safen Ven Anatomisi**

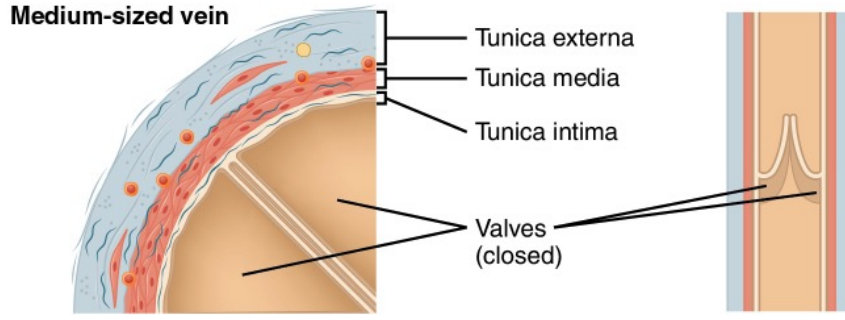
BSV ve küçük safen ven (KSV) alt ekstremitenin iki temel yüzeysel venidir. BSV, başparmağın dorsal veni ile ayağın dorsal venöz arkının birleşmesi ile oluşur. Büyük safen ven oluştuktan sonra medial malleolün önüne doğru yükselir. Femurun medial kondilinin arkasından geçer (patellanın medial sınırının yaklaşık dört cm arkasından) ve bu düzeyde genellikle KSV ile anastomoz yapar. Uyluğun medialinde kasiğa doğru ilerler ve fascia lata'yı geçerek ana femoral vene dökülür. Büyük safen ven, alt ekstremitenin tüm uzunluğu boyunca yüzeysel olarak ilerlediği için vücuttaki en uzun damardır. BSV ve KSV anatomileri çok değişkenlik gösterir; seyirleri sırasında aralarında çok sayıda anastomoz oluşabilir. BSV'ye dökülen yapılar arasında alt ekstremitenin derin venlerinden perforan venler, aksesuar safen ven, dış pudental ve arka ark damarları bulunur. Ek olarak, ana femoral vene dökülmeden önce, yüzeysel sirkumfleks iliak ve yüzeysel epigastrik venleri de alır<sup>23,91</sup>.



**Şekil 1.** Büyük Safen Ven ve Küçük Safen Ven Anatomisi<sup>24</sup>

### 2.2.2. BSV Histolojisi

İnsan büyük safen ven duvarı; adventisya, media ve intima tabakalarından oluşur. İntima, media tabakasından ayrılan ince yapısal bir özellikte olup endotel ile döşelidir. Altında rudimente bir iç elastik membran ile çevrelenmiştir. Media tabakası, kollajen demetleri ile karışmış ve içinde longitudinal dışında medial liflerden oluşmuştur. Adventisya ise esas olarak kollajen demetlerinden ve dağınık longitudinal düz kas hücrelerinden oluşur. Venöz kapakçıklara yakın yerler, longitudinal kas tabakasından dolayı genellikle kalınlaşır<sup>25</sup>.



**Şekil 2.** Safen Ven Histolojisi<sup>26</sup>

### 2.2.3 Safen Venin Greft Olarak Hazırlanması

KABG için tersine çevrilmiş veya valvotomize edilmiş BSV grefti hazırlanmasına yönelik çeşitli teknikler tarif edilmiştir. Ters ven grefti, safen venin doğasında bulunan venöz kapakçıkların işlevini ortadan kaldırır. Safen venin anatomik yerinin belirlenmesi, bir elle palpe edilip, diğer elle de venin sağılmasıyla yapılabilir. Ayrıca, preoperatif ultrasonografi ile safen veni doğrudan görüntüleyebilir ve işaretleyebiliriz. Tarihsel olarak, BSV'nin greft olarak hazırlanmasında açık yaklaşım tercih edilen yöntem olmuştur<sup>27</sup>.

Açık BSV greft hazırlığı tekniğinde, medial malleol anteriorundaki çentik palpe edilerek bir kesi yapılır. Cilt tutulur ve diseksiyon makası ile damar tespit edilene kadar cilt altı künt diseksiyonlarla açılır. Safen ven takip edilerek, hedef damar sayısına uygun uzunlukta insizyon uyluğa doğru uzatılır. Tek paralel bir kesi yerine sıralı, merdivenli kesiler de kullanılabilir. Diseksiyon, damarı mümkün olduğunca minimal düzeyde manipüle etmeye özen göstererek hedef seviyeye doğru devam eder. Distal kısımdan safen kanülü yerleştirilir. Operatör, safen kanülüne uyumlu bir enjektörden heparinize salin ile damarı şişirerek, yandalları ve kaçakları kontrol eder. Yandallar belirlenir, klipslenir veya ipek sütürler ile bağlanır. Manipülasyon minimal düzeyde tutularak BSV grefti çevre dokudan temizlenir ve serbestlenir. Uygun bir damar uzunluğu elde edildikten sonra venin proksimal ve distal yönleri klempenir. Greft, tercihen Potts-Smith makasıyla düzgün bir kesi ile çıkarılır. Bu örnek greft olarak kullanılabilecek kadar heparinize edilmiş bir salin banyosuna yerleştirilir.

Açık cerrahi ven greft hazırlığının yanında, endoskopik safen ven hazırlığı da kullanılan yöntemler arasındadır. Bu yöntem, medial malleolün 2-3

cm yukarisından kesi yapılarak başlanır. İnsizyona balon uçlu bir trokar yerleştirilir ve fasyal kanalın damar uzunluğu boyunca insüflasyonuyla safen ven çevresinde bir tünel oluşturulur. Daha sonra bir diseksiyon konisi, damarlardan bağımsız olarak damarın ön tarafı boyunca kasığa doğru ilerletilir. Daha sonra damarın çevresel diseksiyonu, duvarın yan ve arka yönleri boyunca dalları belirleyerek dikkatli bir şekilde gerçekleştirilir. Bu dallar bipolar elektrokoter ile ligasyona tabi tutulur. Damar tamamen izole edildikten sonra kasıktan bir insizyon yapılır ve damar çıkarılır<sup>27</sup>.

İster açık ister endoskopik yöntemle BSV hazırlanırken, damarda gereksiz travma ve hasar oluşmasını önlemek için son derece dikkatli olunmalıdır. Zira greftin hazırlanılmasındaki özensiz davranış, intima hasarı ile yakından ilişkilidir.

Çalışmamızın gerçekleştirildiği klinikte açık cerrahi teknik benimsenmiştir. Numuneler aynı tekniği ve yaklaşımı benimsemiş operatörler yardımı ile toplanmıştır.



**Resim 1.** Açık Cerrahi Safen Ven Grefti Hazırlığı (solda) ve Endoskopik Safen Ven Grefti Hazırlığı<sup>28</sup>

### 2.3. Safen Ven Greft Yetmezliği

KABG uygulamalarının başlamasından günümüze, BSV halen en sık kullanılan otolog grefttir. KABG'den sonraki ilk yılda BSV greftlerinin %15'i oklüde olurken, bu oran 10 yıl sonra %50-60'lara çıkabilmektedir. Eğer BSV grefti postoperatif 1 hafta açık kalırsa, 10 yılda açık kalma oranı %68'dir<sup>29</sup>. BSV

grefti, KABG cerrahisinde çok önemli olsa da; İMA, anatomik ve immunohistokimyasal yapısından dolayı günümüzde LAD pozisyonu için ilk seçenektir. Buna karşın, KABG cerrahisinin %80'den fazlasında tam revaskülarizasyon için BSV greft olarak kullanılmaktadır<sup>22</sup>.

Ven greft yetmezliği ile ilişkili risk faktörleri arasında diyabet, hiperlipidemi, kronik böbrek hastalığı, yaş, etnik köken ve cinsiyet yer alır. Direkt olarak safen venin kendisi ve bypass yapılacak hedef damar da greft yetmezliği ile ilişkilidir. Bunlar arasında; damarın çapının artmış olması, bölgesel genişlemeler, önceden var olan medial hipertrofi ve intimal hiperplazi, venin çıkış alanı, bypassın yapılacağı oklüzyonun distalindeki arterin durumu, greftin açık kalma süresinde etkilidir<sup>30</sup>.

BSV'nin çıkarılmasından saklanması ve greft olarak kullanılmasına kadar geçen süreçte oluşan mekanik hasar, barotravma ve hipoksi; intimal harabiyete neden olmaktadır. Bypass sonrası değişen kan reolojisi ve pulsatil kan akımı bu harabiyeti daha da artırmaktadır<sup>22</sup>.

Teknik hatalar, tromboz ve vazospazm, ameliyat sonrası erken dönemde (<30 gün) ven greft başarısızlığının başlıca nedenleri iken, intimal hiperplazi ve ateroskleroz sırasıyla kısa vadede (30 gün ila 2 yıl) ve uzun vadede (>2 yıl) BSV greft yetmezliğine neden olmaktadır<sup>8</sup>.

### **2.3.1. Safen Ven Greft Yetmezliği Patofizyolojisi**

#### **2.3.1.1. Akut Dönem: Mekanik Hasar ve Oksidoinflamatuar Değişiklik**

BSV'nin erken dönem yetmezliğinin kaynaklarından biri, greft hazırlığında yaşanan mekanik hasardır<sup>30</sup>. BSV'nin çıkarılması ve hazırlanması sırasında birbirini takip eden ve artan şekilde doku hasarı meydana gelir. Bunların nedenleri arasında mekanik germe, spazmı çözmek ve greft üzerindeki yandal ve kaçakların tespiti için heparinize salin ile kontrol, koruma solüsyonunda greftin bekletilmesi yer alır. Ayrıca, bypass sonrası da iskemi reperfüzyon hasarı gerçekleşir<sup>8</sup>.

BSV'de biyomekanik hasar nedeniyle NO ve PGI<sub>2</sub>'nin azalması; adezyon moleküllerinin (ICAM, VCAM, P-selektin, CD11β/CD18 vb.) ve proinflamatuar sitokinlerin (TNFα, IL-1β, vb.) artmasına neden olacaktır. Bu durum, adezyon

moleküllerinin endotel hücreleri, lökositler ve trombositler ile etkileşmesine neden olur<sup>30,31</sup>. Rho kinaz yolağının etkisinde aktive olan lökosit, trombosit ve endotel hücrelerinden açığa çıkan süperoksit, peroksinitrit, hipoklorid gibi oksijen radikalleri dokuda oksido-inflamatuar süreci başlatır<sup>33,34</sup>.

Oksidatif stres, birçok kardiyovasküler hastalıkta damar hasarına aracılık eden bir mekanizmadır<sup>35</sup>. Patofizyolojik durumlarda reaktif oksijen ürünlerinin üretimi artar ve düzensizleşir. Hasarlanmanın ikincil bir aracısı olarak hizmet eder.

Reaktif oksijen türleri (ROS), vasküler düz kas hücresi (VSMC) replikasyonu, göçü ve ateroskleroz ile ilişkili hücre içi sistemleri tetikler. Uyarılabilir ROS kaynakları arasında NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, nitrik oksit sentaz (NOS), siklooksijenaz, lipoksijenaz ve mitokondri yer alır. Ven greft yetmezliğinin önlenmesinde NADPH oksidaz'ın inhibisyonunu içeren terapötik stratejilere odaklanan çalışmalar literatürde yerini almıştır. NO ile NADPH oksidaz arasında dinamik bir denge mevcuttur. NO biyoaktivitesi NADPH oksidaz'dan üretilen oksijen radikalleri tarafından engellenir<sup>36</sup>.

Vasküler endotelyal NO sentaz (eNOS) tarafından üretilen NO, VSMC replikasyonu ve göçü ile neointima oluşumu, trombosit ve lökosit aktivitesi, adezyon molekülü ekspresyonu, lipid oksidasyonu ve anjiyogenezi gibi tüm faktörlerin inhibisyonunu içeren vazoprotektif etkiler ortaya çıkarır<sup>36</sup>. Bunlar, ven greft açıklığına yararlı olabilecek özelliklerdir. Tsui ve arkadaşlarının 2002'de yaptıkları bir çalışma, açık cerrahi greft hazırlığında standart ve dokunmadan (no-touch) teknikle çıkarılan safen venleri karşılaştırmıştır. Dokunmadan pediküllü çıkarılan safen venlerin media ve adventisyasındaki NOS kaynaklarının (her üç izoform için geçerli) daha iyi korunduğu rapor edilmiştir<sup>5,37</sup>.

Enflamatuar medyatörler, ven grefti değişiminin tüm dönemlerinde kritik değere sahiptir. DAMP'ler (Hasarla ilişkili moleküler kalıplar): Proteoglikanlar, ısı şoku proteinleri, biglikanlar; erken enflamasyonun ilk araçlarıdır. Endojen DAMP'ler greftlerin endotel hücrelerinden eksprese edilen TLR'leri (Toll Benzeri Reseptör) aktive eder. Ven greft yetmezliğinin uygulandığı bir fare deneyi modelinde TLR4'ün genetik silinmesi ve RNA susturulması inflamasyonu baskılamış ve bunun sonucu olarak dışa doğru remodeling ve intimal hiperplazi azalmıştır<sup>30,38</sup>.

Genel anlamda sitokinler; inflammatuar hücreleri, VSMC'leri ve endotel hücrelerini aktive ederek hücrenin remodelingini tetikleyen proinflammatuar araçlardır. TLR'ler, kalıp tanıma reseptörü rollerinde, enflamatuar yanıtların indüksiyonunda merkezi bir rol oynar<sup>30</sup>. TLR3 hariç, tüm TLR'ler MYD88 yoluyla sinyal verir; bu yol aktive edilmiş B hücrelerinin nükleer faktör k-hafif zincir arttırıcısını (NFκB) aktive eder ve proinflammatuar sitokinlerin indüksiyonuyla sonuçlanır<sup>39</sup>.

Nükleer faktör-κ B (NFκB), inflammatuar yanıtın orkestra lideri olarak kabul edilebilir. 150'den fazla uyaran tarafından aktive edilir ve 150'den fazla genin transkripsiyonunu düzenler. NFκB tarafından düzenlenen bir inflammatuar yanıtın, cerrahi manipülasyonlardan sonra toplanan damar örneklerinde gösterildiği bir çalışmada, NFκB'nin aktivasyonunu gösteren bantların optik yoğunluğu örneklerin çoğunda artmıştır. Sonuç olarak, standart bir cerrahi greft hazırlığı sonrası damar duvarında NFκB kaynaklı bir inflammatuar yanıt indüklenir<sup>40</sup>. Deneysel modellerde, NFκB'yi inhibe etmeye yönelik stratejiler, inflamasyonu azaltarak intimal hiperplazi oluşumunun azalmasını hedeflemektedir<sup>30</sup>.

Açık cerrahi ven greft hazırlığı sırasında şişirilen safen venin basınca maruz kalan segmentlerini ayrı ayrı inceleyen bir çalışmada, inflamasyonun erken safhalarında eksprese edilen TLR'ler değerlendirilmiştir. Genişlememiş ven ile karşılaştırıldığında genişlemiş vende TLR2'nin mRNA ekspresyonunda 12 ile 25 kat artış gözlenmiştir. Aynı zamanda ICAM-1, PECAM-1, TLR2 ve SR-A gibi hücre adezyon molekülleri ve inflamasyon biyobelirteçlerinin yukarı regülasyonunun BSV'nin intraoperatif distansiyonundan kaynaklandığı gösterilmiştir<sup>41</sup>.

### **2.3.1.2. Erken Dönem: Tromboz ve İntimal Hiperplazi**

Açık cerrahi ven greft hazırlığı, hafif endotelial soyulma ve eNOS kaybına yol açarken, hazırlığın ex vivo aşamalarının ardından hasarın daha da arttığı görülmektedir.

Canlı ve sağlam bir endotel birçok koruyucu role hizmet eder. Endotel tarafından salınan NO, vazodilatasyonu teşvik eder ve trombosit yapışmasını ve trombozu önler. Buna karşılık, işlevsiz endotel protrombotik özellikler gösterir ve hiperplastik lezyonun gelişiminde kritik bir adım olan büyüme

faktörlerini salgılayan dolaşımdaki trombositlerin ve lökositlerin bağlanmasına izin verir. Bu nedenle, endotelyal soyulma ve oksidoinflamatuar hasarda açığa çıkan trombojenik, kemotaktik ve vazokonstriktör ajanlar BSV lümeninde erken dönemde trombüs oluşumuna neden olabilir<sup>8</sup>.

Yaşanan oksidoinflamatuar süreçte açığa çıkan yıkım ürünleri ve sitokinlerle uyarılmış düz kas hücreleri çoğalarak intimaya doğru hareket edecektir. Medya ve adventisyada bulunan monositler de makrofaj özelliği kazanarak endotele doğru hareket ederken, bağ dokusu hücreleri de miyoblasta dönüşecektir<sup>37,42,43,44</sup>. Matriks dönüşümü, düz kas hücrelerinin çoğalması, göçü ve apoptozisi, intimal hiperplazi oluşumunun önemli komponentleridir. Medyadan intimaya veya anastomoz yapılan arterden greftin intimasına göç esnasında, düz kas hücreleri pasif kontraktıl fenotipten dediferansiye proliferatif fenotipe dönüşür. Bu adventisyal fibroblastlardan üretilen düz kas benzeri hücreler, süperoksit dismutaz'ın azalmış aktivitesi nedeniyle düz kas hücrelerine kıyasla daha fazla süperoksit üretirler. Yeniden modellenen damar greftleri geniş bir matriks metalloproteinaz (MMP) repertuarı içerir. MMP'ler damar duvarındaki kollajeni ve hücre dışı matrisin diğer bileşenlerini bozarlar. Birbirini takip eden düz kas hücreleri ve hücre dışı matriks kaynaklı araçlar, süreci intimal hiperplaziyle sonlandırır<sup>30</sup>.

Son dönemlerde hücre içi bir sinyal molekülü olan mTOR ve onun alt birimlerinin fizyolojik ve patolojik süreçlerdeki rolü ile ilgili çalışmalar ilgi çekmektedir. Alt birimlerinin kardiyovasküler sistemde uyumsuz ve uyarlanabilir fonksiyonlarından dolayı tartışmaya ve araştırılmaya açıktır. mTOR'un oksidoinflamatuar olaylarda rolü olduğu ve mTOR inhibitörleri ile bu süreçlerdeki etkilerinin tersine çevrilebileceği yeni çalışmalarda ifade edilmektedir.

Erken dönem ven greft yetmezlik nedenlerinden intimal hiperplazi ile eş zamanlı seyreden diğer bir kavram arteriyelizasyondur.

1964 yılında Sziliagyi ve meslektaşları, arteriyel dolaşımdaki artan basınca uyum sağlamak için bir damarın boyutunda %50'lik bir artış olması gerektiğini öne sürdüler<sup>45</sup>. Bu ilk adaptasyon greftin arter benzeri bir yapı kazanması için gerekli olsa da, bu süreç aynı zamanda önemli ölçüde ven greft yetmezliğine neden olacaktır. Venöz bypass greftlerinin arteriyelizasyonu, intimal hiperplazi, geometrik yeniden şekillenme, duvar sertleşmesi ve

inflamasyon gibi süreçleri içerir<sup>30</sup>. Hemodinamik streslere duyarlı olması nedeniyle öncelikle endotel aracılığıyla damarın geometrik adaptasyonu gerçekleşir. Hemodinamik kuvvetler, geometrik parametrelerle birlikte, kanın akışının maksimum verimlilikte kalmasını sağlar<sup>30</sup>.

İntravasküler ultrasonografi (İVUS) ile yapılan çalışmalarda damar greftlerinin erken duvar kalınlaşması ve genişlemesinin, implantasyondan sonraki ilk birkaç hafta içinde oluştuğunu ve 6 ay sonra stabil hale geldiğini gösterir<sup>46</sup>. Postoperatif ilk yılda, damar greftinin önemli bir kısmı, damar duvarı kalınlaşmasına adaptif bir yanıt olarak daralma veya içe doğru yeniden remodeling gösterir. Konstriktif ve içe doğru remodeling, ven grefti arteriyelizasyonuna zarar verir<sup>47</sup>. Böylece adaptif yanıtla başlayan bu arteriyelizasyon süreci anormal remodelinge uğrayan greftlerde ven greft yetmezliğine sebep olacaktır.

### **2.3.1.3. Geç Dönem: Ateroskleroz ve Rüptür**

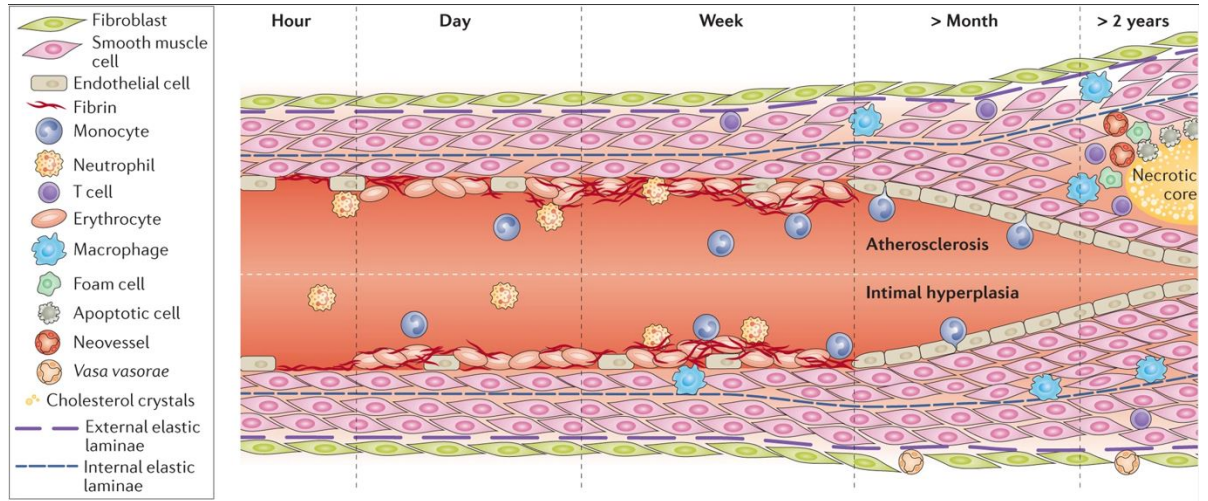
Aterosklerotik lezyon, geç dönem ven greft yetmezliğinin karakteristik özelliğidir. İnsan otopsi serileri, koroner ven greftlerinin doğal arterlere göre daha hızlı aterosklerotik lezyon gelişimine uğradığını göstermiştir. Bu koroner ven greftlerindeki lezyonlar tromboz ve yırtılmalara daha duyarlıdır<sup>30</sup>.

Koroner lezyonlar onlarca yıl boyunca gelişirken, koroner damar greftlerinde köpük hücre gelişimi operasyondan 1 yıl sonra bile gözlemlenmiştir. Nekrotik çekirdek 2-5 yılda gelişir ve bu nekrotik çekirdeğe yeni damar oluşumlarının sebep olduğu plak içi kanama eşlik eder<sup>48</sup>. Ortalama 5 yılın ardından ise plak içi kanamalar ve plak rüptürleri belirginleşir<sup>22</sup>. Plak yırtılmasına bağlı tromboz, geç greft oklüzyonunun en olası mekanizmasıdır.

Geç faz yetmezliğinin özelliklerinden olan; anjiojenik yeni damarlar, nekrotik çekirdekler, yırtılma ve plak içi kanamalar deneysel bir damar grefti modelinde hiperkolesterolemik farelerde gözlemlenmiştir<sup>49</sup>. Ayrıca, bu deneysel fare modelinde TIMP1 (Metalloproteinazların doku inhibitörü) düzenlemesi, anneksin-5 , mast hücreleri ve kompleman faktör C5a gibi inflamatuvar faktörlerin hedeflenmesi sadece intimal hiperplaziyi azaltmamış, lezyon stabilitesini artırarak ateroskleroz ve plak rüptürünü de azaltmıştır<sup>50,51</sup>. Bu

çalışmada, inflamatuvar değişikliklerin sadece erken dönem değil, geç dönem greft yetmezliği etyolojisinde de etkili olduğunu görmekteyiz.

Açık cerrahi ven grefti hazırlığı sırasında akut ven grefti hasarını azaltmaya yönelik çabalar, uzun dönem ven grefti yetmezliklerini azaltma potansiyeline de sahiptir.



**Şekil 3.** Açık cerrahi ven grefti hazırlığı endotel tabakasına zarar verir. Birkaç saat içinde luminal yüzey fibrinden zengin katmanlarla kaplanır ve nötrofiller, monositler ve lenfositler dahil olmak üzere dolaşımdaki beyaz kan hücreleri fibrin katmanına ve intimaya yapışır ve sızar. Medyadaki düz kas hücreleri ve adventisyadaki fibroblastlar aktive olur ve intimaya doğru göç etmeye başlar, bu da intimal hiperplazi oluşumuna neden olur. Enflamatuvar hücreler gibi damar duvarındaki hücreler tarafından salınan büyüme faktörleri ve sitokinler, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu artırır ve hücre dışı matriks birikimini indükleyerek intimal hiperplazinin daha da büyümesine neden olur. Aterojenik koşullar altında ve özellikle KABG cerrahisinden sonra damar duvarındaki makrofajlar lipitleri alıp köpük hücrelerine dönüşebilir. Ölen köpük hücreleri, apoptoz ve kolesterol birikimiyle nekrotik bir çekirdek oluşur. Damar greftlerindeki aterosklerotik süreç, çizimin üst kısmında gösterilmektedir<sup>52</sup>.

#### 2.4. mTOR ve Kompleksleri

Rapamisin'in memeli hedefi (mTOR), katabolik ve anabolik olayları düzenleyerek büyüme ve metabolizmayı kontrol eden bir sinyal

molekölüdür. 1991 yılında Paskalya Adası'nda izole edilen bir bakteri tarafından üretilen rapamisine direnç kazandıran genleri bulmak için tasarlanmış *Saccharomyces cerevisiae* mayasında genetik seçilim kullanılarak 1994 yılında tanımlanan ve saflaştırılan mTOR, fosfatidilinositol 3-kinazla ilişkili kinazlar (PIKK) familyasına ait moleköl ağırlığı 289-kDa olan atipik bir serin/treonin protein kinazdır<sup>53,54</sup>.

mTOR, spesifik adaptör proteinlerle etkileşime girer. mTOR kompleks 1 (mTORC1) ve mTOR kompleks 2 (mTORC2) olarak iki farklı makromoleküler kompleks oluşturur<sup>55</sup>. Her iki kompleks de benzer alt bileşenleri paylaşsa da mTORC1 düzenleyici protein Raptor ile ilişkilidir; mTORC2 ise Rictor'a dayanır<sup>56</sup>. mTORC1 protein sentezini, hücre büyümesini, çoğalmasını, otofajiyi, hücre metabolizmasını ve stres tepkilerini kontrol ederken; mTORC2 hücrenin hayatta kalmasını ve polaritesini düzenliyor gibi görünmektedir<sup>53</sup>. mTORC1 sinyali rapamisine duyarlıdır. mTORC2, akut rapamisin tedavisine duyarsızdır ancak uzun süreli tedaviye dolaylı olarak duyarlıdır<sup>54</sup>.

#### **2.4.1. mTOR Komplekslerinin Fizyolojik Rolü**

mTORC1 ve mTORC2, çeşitli anabolik ve katabolik süreçleri kontrol ederek hücre ve organizma hemeostazisine aracı olur.

mTORC1; glikolizi aktive etmek, protein, lipid, nükleotid biyosentezini düzenlemek ve otofajiyi engellemek için besinleri, büyüme faktörlerini ve hücre AMP/ATP oranını entegre eder. mTORC2 ise sadece büyüme faktörleri tarafından uyarılır. mTORC2'nin en iyi karakterize edilen hedefleri, hücre fizyolojisini birçok yönden düzenleyen Akt (protein kinaz B), protein kinaz C ve serum/glukokortikoid düzenlemeli kinaz -1 (SGK1) gibi AGC kinaz ailesinin üyeleridir<sup>54</sup>.

mTOR değişikliklerinin etkileri üzerine fare modellerinden elde edilen veriler, mTOR'un metabolik sendrom, obezite ve diyabet gibi bozukluklarda merkezi bir rol oynadığını göstermektedir<sup>57</sup>.

mTOR komplekslerinin doğal fizyolojik süreçlerdeki regüle edici özelliği bilinmekte ancak patofizyolojik süreçlerdeki rolünü anlamaya halen ihtiyaç vardır.

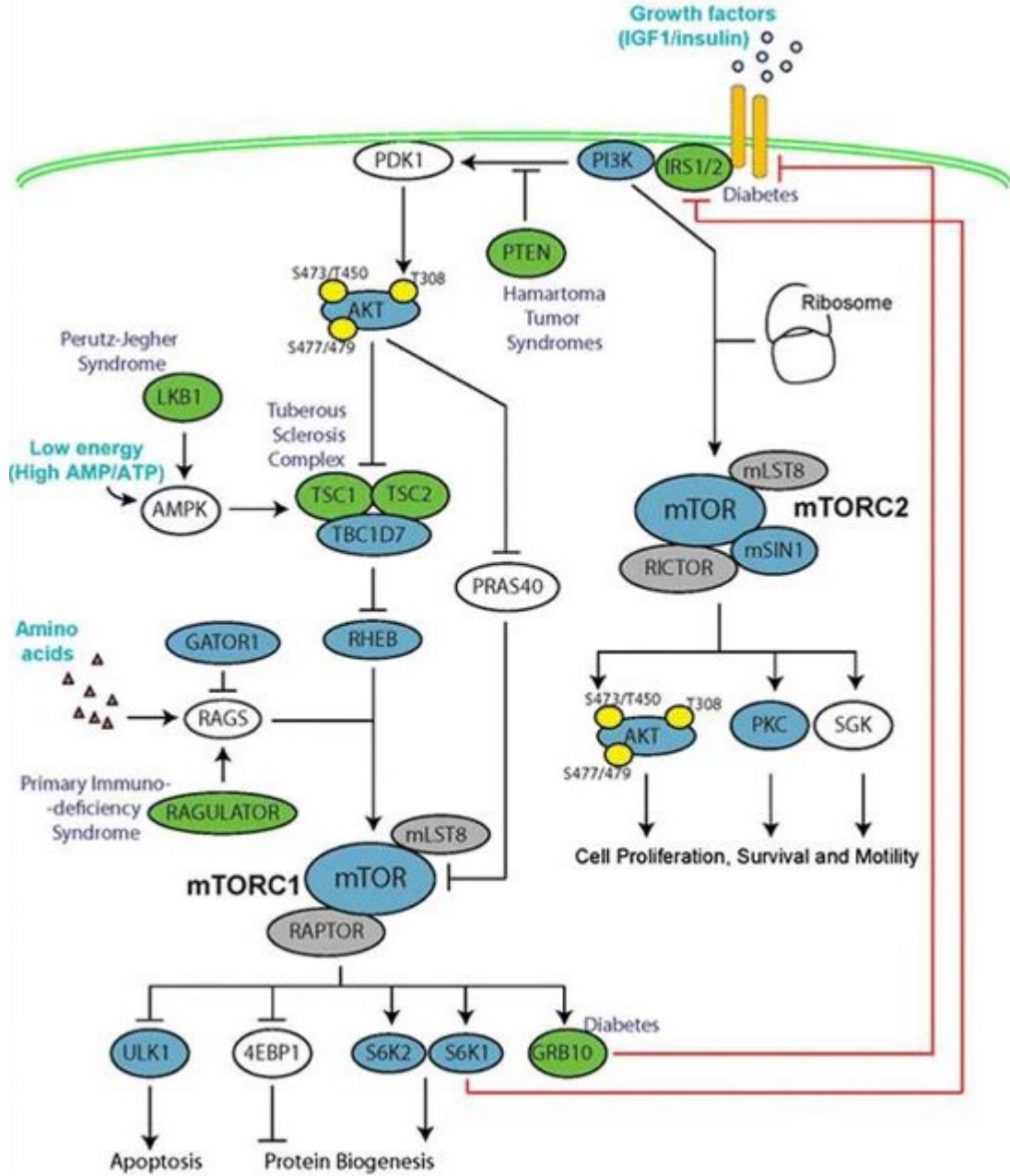
## 2.4.2. Patofizyolojide mTOR

mTOR, otofaji de dahil olmak üzere protein sentezini ve devrini kontrol eder. Bu sebeple, nöronal büyüme ve plastisitede rol oynadığı düşünülmektedir. Sinapslardaki uygunsuz derecede yüksek mTORC1 aktivitesi zararlıdır. Örneğin, TSC1 ve TSC2'de heterozigot mutasyonlara sahip fareler, rapamisin tedavisi ile geri döndürülebilir öğrenme ve hafıza bozuklukları sergiler<sup>58</sup>. Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif bozukluklar, katlanmamış protein agregatlarının birikmesi nedeniyle nöronal plastiklik ve fonksiyon kaybıyla karakterizedir. Bu bozukluklar da mTOR sinyalleme düzensizliği ile ilişkilidir. Rapamisin tedavisi; protein sentezini aşağı yönde, otofajiyi yukarı yönde düzenleyerek yanlış katlanmış protein miktarını azaltır. mTOR, kinikte nörodejeneratif bozuklukları tedavi etmek için hedeflenebilir. Mevcut literatürün ışığında, mTOR'un sinyalleme miktarının nöronal sinapsların düzgün çalışması için hayati öneme sahip olduğu söyleyebiliriz<sup>54</sup>.

mTOR sinyallemesinin negatif düzenleyicilerindeki mutasyonların neden olduğu ailesel kanser sendromlarının varlığı, mTOR'un kanserdeki rolünün altını çizmektedir. Örneğin, TSC1 veya TSC2 kaybı TSC'ye neden olur. LKB1 veya PTEN kaybı sırasıyla Peutz-Jegher sendromuna ve Cowden sendromuna neden olur<sup>54</sup>. Onkogen uyarımı veya tümör baskılayıcıların başarısızlığı yoluyla anormal mTOR yolu aktivasyonu; birçok in vitro hücre hattında ve in vivo murin ksenograft modellerinde tümör büyümesine, metastaza ve anjiogeneze yol açar<sup>59</sup>. mTOR sinyali proliferasyon düzensizliği koşullarında ve çeşitli farklı kanser formlarında aktive olur. mTOR yolunun çoklu elemanlarının serbest bırakılması; meme, over, böbrek, kolon, baş ve boyun kanserleri gibi kanserlerde görülmüştür. Bir mTOR inhibitörü olan rapamisin, sitostatik bir ajan görevi görerek glioblastoma, osteosarkom, prostat kanseri, pankreas kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, meme kanseri ve B hücreli lenfoma gibi tümör tiplerinde türeyen hücre hatlarının büyümesini yavaşlatır veya durdurur. Direkt anti-tümör etkilerinin yanında, rapamisin hücre çoğalmasını ve anjiyogenezi de engeller<sup>53</sup>. mTOR yolunun, kanser etyolojisinde, çeşitli nörolojik ve metabolik hastalıklarda kritik sinyal yolu olduğu anlaşılmaktadır.

Böbrek hastalıklarında ise aktivasyonunun zararlı olduğu gösterilse de, farklı olarak akut böbrek hasarında adaptif bir rol oynar<sup>53</sup>. Normal böbrekte mTOR aktivitesi düşüktür veya yoktur. İskemi-reperfüzyon hasarından sonra artar. mTOR'un rapamisin tarafından inhibisyonu böbrek iyileşmesini ve onarımını geciktirir. Rapamisinin bu etkisi, tübüler hücrelerin proliferasyonunun inhibisyonu ve apoptozunun başlatılması şeklindeki ikili etkilerinden kaynaklanmaktadır<sup>60</sup>. Kronik böbrek hastalığında ise mTOR'un rapamisin tarafınca inhibisyonu fibrozis, interstisyel inflamasyon ve böbrek fonksiyon kaybını iyileştirir. Diyabetik nefropatide rapamisin; hipertrofi, bazal membran kalınlaşması ve mezanjiyal matris oluşumu gibi diyabetik nefropatiye özgü glomerüler değişiklikleri azaltır<sup>61</sup>.





**Şekil 4.** mTOR Sinyali Ve Hastalıklar: Mutasyona uğramış mTORC1 ve mTORC2 sinyal düğümleri. AKT'deki sarı daireler fosforilasyon olaylarını gösterir. Yeşil renkli düğümler, fonksiyon kaybı durumunda hastalığa yol açan proteinleri temsil ediyor. Her molekülün fonksiyon kaybıyla ilişkili sendromlar belirtilmiştir. PTEN ve LKB1'in fonksiyon kaybı diğer tümör türlerinin de ortaya çıkmasına neden olur. Mavi renkli düğümler, kanser hastalarında mutasyona uğramış veya çoğaltılmış proteinleri temsil eder<sup>62</sup>.

### 2.4.3. Kardiyovasküler Sistem ve mTOR

Kardiyovasküler sistemde mTOR yolu hem fizyolojik hem de patolojik süreçleri düzenler. Embriyonik kardiyovasküler gelişim ve doğum sonrası kardiyak homeostazın sürdürülmesi için gereklidir. mTOR fonksiyon kaybı modellerini içeren çalışmalar, mTORC1 aktivasyonunun, mekanik aşırı yüke yanıt olarak adaptif kalp hipertrofinin gelişimi için vazgeçilmez olduğunu ortaya çıkardı. mTORC2 aynı zamanda normal kalp fizyolojisi için de gereklidir ve aşırı basınç yüküne yanıt olarak miyositlerin hayatta kalmasını sağlar. Ancak mTORC1'in kısmi genetik veya farmakolojik inhibisyonu, aşırı basınç ve kronik miyokard enfarktüsüne yanıt olarak kardiyak yeniden yapılanmayı ve kalp yetmezliğini azaltır<sup>55</sup>.

Çalışmalar, mTOR'un kalp için hem uyarlanabilir hem de uyumsuz işlevler oynadığını göstermiştir. mTORC1 veya mTORC2'nin tamamen bozulması, strese yanıt olarak telafi edici kardiyak hipertrofinin gelişimini bozar. Kalbin mekanik ve iskemik hasara uyum sağlama yeteneğini ortadan kaldırır<sup>63,64</sup>. mTORC1 aktivitesinin genetik veya farmakolojik kısmi inhibisyonu, aşırı basınç yüküne ve kronik miyokard enfarktüsüne yanıt olarak patolojik hipertrofiyi azaltır, böylece ventriküler fonksiyonu iyileştirir. Ayrıca mTORC1 inhibisyonu, kalp yaşlanmasının yanı sıra genetik ve metabolik kardiyomiyopatileri de tersine çevirir<sup>65</sup>.

İskemik hasarda giderek artan sayıda kanıt, mTORC1'in enerji yoksunluğuna ve iskemiye karşı kardiyak adaptasyonu düzenlediğini göstermektedir<sup>66</sup>. Çalışmalardan elde edilen genel sonuçlar, mTORC1 yolunun inhibisyonunun miyositlerde adaptif bir yanıt olduğunu ve burada otofaji, enerji korunması ve yanlış katlanmış protein birikiminin azaltılması gibi hücrenin hayatta kalmasını teşvik eden mekanizmaları desteklediğini göstermektedir<sup>55</sup>. Ayrıca, Buss ve arkadaşlarının miyokard infarktüsünün indüklendiği bir fare deneyinde, mTOR'un inhibe edilmesinin enfarktüs bölgesini küçülttüğü, kalp fonksiyonunu iyileştirdiği ve sol ventrikül boyutlarını azalttığı görülmüştür. Bu gözlem, otofajide bir artış, sınırlı inflamasyon ve proteazomal bozulmada genel bir azalma ile bağlantılıydı<sup>67</sup>.

mTOR inhibitörleri, aterosklerotik plaklara bağlı koroner arter daralmasının tedavisinde kullanılan ilaç salınımlı stentlerin farmakolojik

bileşenleri olarak koroner arter hastalığı olan hastalarda yaygın şekilde test edilmiştir. Bu stentlerden salınan mTOR inhibitörleri, vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederek, implantasyondan sonra stent restenoz oranını düşürür<sup>55</sup>.

**Tablo 1.** mTOR'un kardiyovasküler sistemdeki düzenleyici rolleri<sup>68</sup>.

Hedefler	mTOR'un biyolojik işlevi
Kök hücreler	Embriyonik kök hücrelerin proliferasyonunu/farklaşmasını düzenler Embriyonik kök hücrelerin pluripotensini korur Embriyonik kök hücrelerin uzun süreli yenilenmesini teşvik eder Hematopoietik kök hücrelerin yaşlanmasıyla ilişkilidir Eritropoetin kaynaklı osteoblastogenez ve osteoklastogenez aracılık eder Endotel progenitör hücre gelişimini destekler
Programlanmış hücre ölümü	Apoptozu ve otofajik hücre ölümünü modüle eder
Damarlanma	Endotelial progenitör hücrelerin ve endotelial hücrelerin proliferasyonunu teşvik eder Matriks metaloproteinazların indüksiyonunu önler Anjiyogenez teşvik eder
Kalp-damar hastalığı	Kardiyomiyositleri iskemi/reperfüzyona karşı korur Kardiyomiyositlerde otofajiyi inhibe ederek kardiyak atrofiyi önler Uzun süreli aktivasyon vaskülopatiyeye yol açar

#### 2.4.4. mTOR'un İnflamasyon ve Oksidatif Stres İle İlişkisi

Oksidatif stres ile mTOR sinyali arasındaki etkileşim karmaşıktır çünkü mTOR yalnızca oksidatif stresi düzenlemekle kalmaz, aynı zamanda oksidatif stresten de etkilenir<sup>11</sup>. mTOR'un farmakolojik veya genetik yaklaşımlarla inhibisyonu, nitrik oksit üretimini iyileştirir ve sıçan aortlarında sitozolik süperoksit oluşumunu inhibe eder<sup>14</sup>. Benzer şekilde, farklı deneysel modellerde yapılan önceki çalışmalar, mTOR inhibitörü rapamisin'in çeşitli organlar üzerinde antioksidan benzeri bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir<sup>12,13</sup>.

Reho ve arkadaşlarının fare aortik ringlerinde yaptıkları bir çalışmada ROS sinyalleme yoluyla vasküler endotel fonksiyonunun düzenlenmesinde mTORC1 sinyalleme sinin kritik bir rol oynadığını tanımlamışlardır. Hem endotel hücrelerinde hem de vasküler halkalarda yapılan çalışmalarda, yüksek mTORC1 aktivitesinin pro-oksidan gen ekspresyonunu ve ROS oluşumunu arttırdığını ve bunun endotel aracılı vazorelaksasyonun azalmasında etkili olduğunu göstermişlerdir<sup>69</sup>.

Farelerde DOCA tuzu kaynaklı bir hipertansiyon modelinde, mTOR'un NADPH oksidaz, ERK1/2 ve MAPK'nin artan aktivitesi yolu ile kardiyovasküler, renal hipertrofi, oksidatif stres ve kardiyak inflamasyonda rol oynadığı gösterilmiştir. Sonuçlar ayrıca mTOR'un rapamisin tarafından inhibisyonunun DOCA tuzu kaynaklı hipertansiyonu hafiflettiğini, kardiyovasküler ve böbrek hasarına karşı etkili bir koruma sağladığını göstermiştir<sup>10</sup>.

Ribeiro ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği in vitro çalışmada, lipopolisakkarid ile yarattıkları inflamasyonda, mTOR aktivasyonunun monositlerin aktive olmasına ve kümelenmesine neden olduğunu göstermişlerdir<sup>70</sup>.

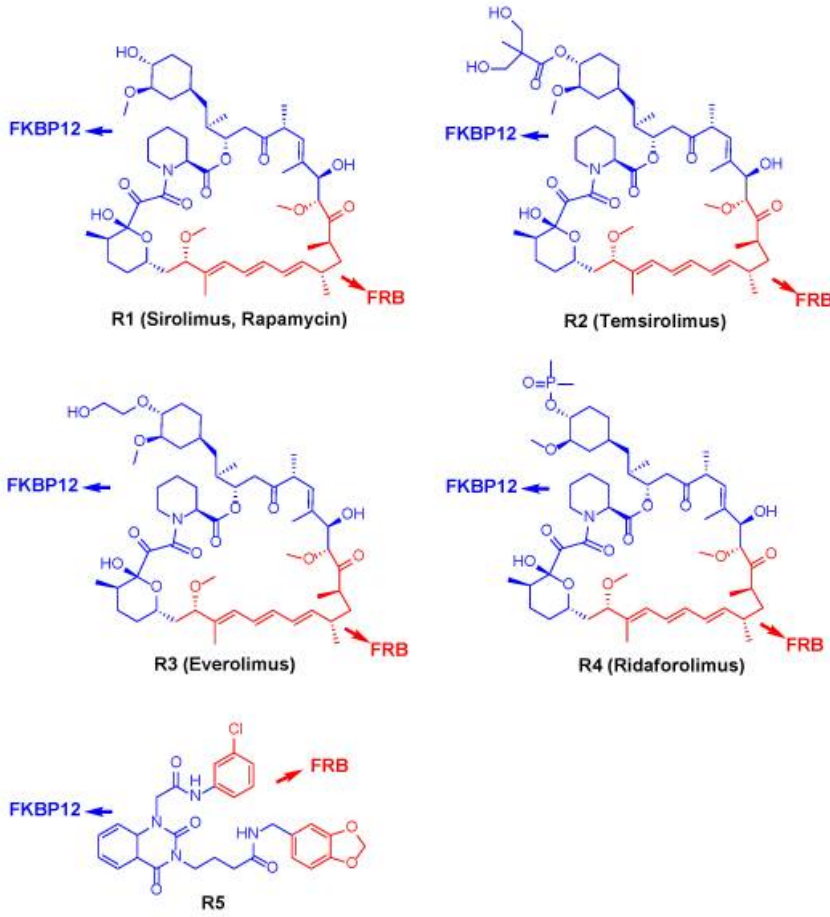
Zimosan kaynaklı septik olmayan sistemik inflamasyon yaratılan bir hayvan çalışmasında, mTOR'un hipotansiyon ve oksidatif/nitrozatif stres ile karakterize edilen bu şok tablosunda sistemik inflamasyona ve ilgili doku hasarına katkıda bulunduğu dair kanıtlar sunulmuştur. Aynı çalışmada, mTOR inhibitörü olan rapamisin, TNF-a ve IL-1 $\beta$  seviyelerindeki tüm artışları tersine çevirmiştir ve zimosan uygulamasını takip eden ortalama arteriyel basınçtaki düşme ve kalp atım hızındaki artma gibi kardiyovasküler etkileri tersine çevirmiştir<sup>15</sup>.

mTOR, şiddetli sistemik inflamatuvar yanıtla karakterize edilen hastalıkların tedavisi için optimal bir hedef olabilir.

## 2.5. m-TOR İnhibitörleri ve Kullanım Alanları

mTOR inhibitörleri, etki bölgelerine göre üç kategoride değerlendirilir: mTOR'un allosterik inhibitörleri, ATP rekabetçi mTOR inhibitörleri ve ikili bağlanma bölgesi inhibitörleri.

mTOR'un allosterik inhibitörlerinden rapamisin, sirolimus olarak da bilinen ilk mTOR inhibitörüdür. *Streptomyces hygroscopicus*'tan izole edilmiştir. 1999 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından organ nakli hastalarında immünsüpresif olarak kullanımı onaylanmıştır<sup>71</sup>.



**Şekil 5.** mTOR'un allosterik inhibitörlerinin yapıları ve bunların FKBP12 (mavi) ve FRB (kırmızı) ile bağlanma modunu gösteren gösterimler. R1–R4: rapamisin ve türevleri; R5: rapalog olmayan allosterik inhibitör<sup>89</sup>.

Temozolimumus ( R2 ), everolimus ( R3 ) ve ridaforolimus ( R4 ) gibi rapamisin türevleri, rapamisinin omurga yapısı korunarak farmakokinetik özelliklerinin geliştirildiği diğer modifikasyonlardır. Temozolimumusun ileri renal hücreli karsinomun tedavisinde kullanımı 2007 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. İlk başta sadece bir immünsüpresif olan Everolimus, aynı zamanda ileri renal hücreli karsinom, subependimal dev hücreli karsinom ve tuberoz skleroz dahil onkolojik hastalıkların tedavisinde onaylanmıştır. Ridaforolimusun oral uygulanması, metastatik yumuşak doku veya osteosarkomlu hastalarda plaseboya kıyasla anlamlı bir iyileşme ile sonuçlanmıştır.

mTOR inhibitörlerinin rapamisin (R1) ile başlayan yolculuğu günümüzde Torin2 (R31) 'den sentezlenen R61 bileşiğinin keşfine kadar sürmüştür. Klinik uygulamalarının yanı sıra hayvan ve hücre çalışmalarında da literatüre giren

tüm inhibitörlerin lenfanjiyoleiyomiyomatozis, meme, over, prostat, kolon kanseri, glioma, non-Hodgkin lenfoma, tuberoz skleroz, renal hücreli kanser ve hepatosellüler kanser gibi alanlarda kullanımı tanımlanmıştır. Temelde etkilerini hücre proliferasyonunu önleyerek ve apoptozu teşvik ederek göstermektedirler<sup>71</sup>.

### **2.5.1. İlaç Salınlı Stent (DES) Teknolojisinde Limus Bazlı İlaçlar**

DES günümüzde semptomatik koroner arter hastalığının perkütan anjiyografik tedavilerinde, stent içi restenozun önlenmesinde altın standarttır. Bu modifiye stentler, bünyesindeki terapötik ajanları dolaşıma, plaklara ve çevre dokulara salmak üzere tasarlanmıştır. Antimitotik, antiinflamatuvar, antikoagülan ve immünsüpresif özellikler gösteren moleküller/ajanlar stentlere eklenmiş ve klinik olarak test edilmiştir<sup>72</sup>.

DES'te kullanılan ilaçlar arasında en büyük ilgi 'limus' ailesiyle ilişkili ajanlar üzerinedir. Bugüne kadar altı farklı limus bazlı DES kullanılmıştır: Sirolimus (rapamisin) salınlı stent, Takrolimus salınlı stent, Everolimus salınlı stent, Biolimus A9 salınlı stent, Zotarolimus salınlı stent ve Pimekrolimus salınlı stentlerdir. Everolimus, Biolimus A9 ve Zotarolimus; Sirolimus'un analoglarıdır, yani mTOR inhibisyonu üzerinden çalışan ajanlardır. Pimekrolimus ise Takrolimus'a yapısal benzerliği olan bir askomisindir<sup>72</sup>.

Sirolimus salınlı stent, Avrupa ve Kuzey Amerika sağlık otoritelerince onaylanan ilk cihaz olmuştur. Sirolimusun kullanımı, vasküler düz kas hücrelerinin büyüme ve göçünü engelleme özelliğinden türetilmiştir ve restenozun önlenmesinde çığır açmıştır<sup>73</sup>.

Everolimus, sirolimus türevi bir mTOR inhibitörüdür ve geliştirilmiş fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Everolimus ile yapılan çalışmalar, VSMC proliferasyonunun daha düşük dozlarda etkili bir şekilde inhibe edilebileceğini göstermiştir. Bu molekül DES teknolojisinde 2004 yılından beri kullanılmaktadır<sup>74</sup>.

Sonuç olarak, balon anjiyoplasti sonrası neointima oluşumu, restenoz riskine yol açarak koroner anjiyoplastinin önemli bir sınırlayıcı faktörüydü. DES'lerin kullanıma sunulması, koroner lezyonlara doğrudan uygulanan antiproliferatif ajanlar sayesinde restenoz oluşumunu büyük ölçüde azaltmıştır.

Limus ilaç ailesi, günümüz DES teknolojisinde en yaygın kullanılan ajanlardır. Bu ilaçlar benzer moleküler yapılar taşırsalar da, farklı hücresel hedeflere sahiptirler. Sirolimus ve türevleri mTOR inhibitörleri olup, kalıcı klinik faydalar sağlamaktadır<sup>75</sup>.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, MEÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 31.08.2022 tarihli ve 2022/604 sayılı Kurul Kararı ile gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Araştırmanın Tipi

Çalışma, prospektif yarı deneysel (self-controlled) bir tasarıma sahiptir.

#### 3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırma, Ocak 2022'de literatürün taramasıyla başladı. MEÜ Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı ve MEÜ Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve araştırma görevlileri ile planlama yapıldı. Etik kurul başvurusunun ardından Ağustos 2022'de onay alındı. 01.09.2022–01.09.2023 tarihleri arasında, MEÜ Tıp Fakültesi Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği'nde; dâhil edilme ve dışlanma kriterlerini karşılayan 44 hastadan safen ven numuneleri toplandı. Mayıs 2023'de MEÜ Bilimsel Araştırma Projelerine (BAP) başvuru gerçekleştirildi. Ocak 2024'de biyokimyasal mTOR çalışmaları MEÜ Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda yürütüldü. Çalışmaya eklenen histolojik incelemeler Haziran 2024'te MEÜ Histoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışma verileri toplandı ve Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından Temmuz 2024'te istatistik çalışması gerçekleştirildi. Yazım süreci tamamlandı ve 12.08.2024 tarihinde tez savunması yapıldı.

#### 3.3. Çalışmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Dahil edilme kriterleri:

- i. 01.09.2022 - 01.09.2023 tarihleri arasında operasyona alınan hastalar.
- ii. Koroner bypass cerrahisinde safen ven grefti kullanılarak opere edilen ve atık materyali saklanmış olan, Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nu imzalayanlar.
- iii. Koroner arter bypass cerrahisi yapılacak 35-70 yaş arası hastalar.

- iv. Acil vaka olarak operasyona alınmayan hastalar.
- v. İmmünsüpresif ilaç kullanmayan hastalar.
- vi. Kronik böbrek yetmezliği bulunmayan hastalar.
- vii. Karaciğer fonksiyon testleri bozuk olmayan hastalar.

Dışlanma Kriterleri:

- i. 01.09.2022 - 01.09.2023 tarihleri arasında başvurmamış olanlar.
- ii. Koroner bypass cerrahisinde safen ven grefti kullanılarak opere edilen hastalardan Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nu imzalamayanlar.
- iii. Koroner arter bypass cerrahisi yapılan, 35 yaşın altındaki ve 70 yaşın üstündeki hastalar.
- iv. Acil vaka olarak operasyona alınan hastalar.
- v. İmmünsüpresif ilaç kullanan hastalar.
- vi. Kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalar.
- vii. Karaciğer fonksiyon testleri bozuk olan hastalar.

Dâhil edilme ve dışlanma kriterlerini karşılayan MEÜ Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği'nde koroner bypass cerrahisi uygulanan hastaların safen venleri kullanıldı.

### **3.4. Araştırma Materyali**

Dahil edilme ve dışlanma kriterlerini karşılayan, koroner bypass cerrahisi uygulanan hastaların safen venleri kullanıldı. Aynı hastaya ait safen venlerde işlem öncesi ve sonrası mTOR protein ölçümleri yapıldı.

Kontrol grubu: İşlem öncesi safen vende mTOR protein ölçümü.

Çalışma grubu: İşlem sonrası safen vende mTOR protein ölçümü.

### **3.5. Çalışmanın Değişkenleri**

Ven greft hazırlığı işleminden önce ve sonra ölçülen mTOR proteini değerleri.

### **3.6. Veri Toplama Araçları**

#### **3.6.1. Hasta Sayısının Belirlenmesi**

Yarı deneysel çalışma tasarımına göre; koroner bypass cerrahisi için işleme başlamadan alınan manipüle edilmemiş safen ven ile manipülasyondan sonraki safen venin mTOR protein ölçüm ortalamaları arasındaki değişimin minimum 0.5 (cohen's d) etki büyüklüğü altında; maksimum %5 1. tip hata payı ve minimum %80 güç ile çalışmaya dahil edilmesi gereken hasta sayısı 44 belirlenmiştir.

#### **3.6.2. Hasta Seçimi**

Öncelikle çalışma planlanırken dâhil edilme ve dışlama kriterleri belirlendi. 01.09.2022–01.09.2023 tarihlerinde dâhil edilme ve dışlama kriterlerini karşılayan ve standart koroner bypass cerrahisi uygulanacak hastalar preoperatif dönemde seçildi. Hastanın kendisine operasyon planı açıklandı. Rutin prosedürde safen venin nasıl çıkarılacağı, araştırma için ilk etapta 2 cm'lik safen ven alınıp saklanacağı ve operasyon sonunda rutinde tıbbi atık olacak artan safen ven parçalarından da 2 cm ayrılıp saklanacağı detaylı bir şekilde açıklandı. Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun uygun gördüğü şablonunda Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Erişkin Hasta Gönüllüler İçin) imzalatıldı.

#### **3.6.3. Cerrahi Hazırlık ve Numunelerin Saklanması**

Safen ven çıkarma ve hazırlama prosedürü, Mersin Üniversitesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği'nin öğretim üyeleri ve araştırma görevlilerinden oluşan aynı cerrahi ekip tarafından gerçekleştirilmiştir. Numunelerin uygun saklama kaplarına alınmasına, kalp ve damar cerrahisi ameliyathanesinde sabit çalışan hemşire ve personel yardımcı olmuştur.

KABG için tüm hastalara genel anestezi altında median sternotomi uygulandı . Eş zamanlı olarak, genellikle sağ bacadan olmak üzere, medial

malleol üzerinden yapılan kesi ile safen ven görüldü. Bypass yapılacak damar sayısına uygun olacak şekilde cilt kesisi uyluğa kadar uzatıldı.

Kontrol grubu(işlem öncesi) numuneleri, bu aşamada safen ven henüz herhangi bir manipülasyona maruz kalmadan, distal seviyeden düzgün kesilerle yaklaşık 2 cm uzunlukta alındı. Alınan parçadan bistüri ile ışık mikroskopisi için 1 cm'lik bir numune daha ayrıldı. mTOR çalışılacak biyokimya numunesi, uygun boyuttaki boş eppendorf tüplere konuldu ve aynı binadaki genetik laboratuvarının -80°C derin dondurucusuna buz aküsü ile transfer edildi<sup>88</sup>. Işık mikroskopisi için ayrılan numune doku takip kasetine alındı ve %10'luk formaldehit dolu kapaklı bir kutuya konarak, histoloji laboratuvarına buz aküsü ile transfer edildi.

Devam eden cerrahi süreçte, KABG cerrahisinde rutinde olduğu gibi safen ven kanüle edildi. Kanül ucuna takılan 20cc'lik bir enjektörden uygulanan salin ile şişirildi. Yandallar belirlendi, çevre dokudan serbestlendi ve yer yer yapışık yağ ve sinir dokudan sıyrılırken safen ven adventisyası soyuldu. Sıvı kaçağı olan yandallar 3.0 ipek sütürler ile bağlandı, daha küçük olan yandallara metal klips kondu. Bu aşamalarda istenmeden de olsa çekme ve germeye maruz kaldılar. Bypassa hazır olan greft, heparinize edilmiş serum fizyolojik bulunan tase alındı ve üzerine kanülasyon sırasında alınan hasta kanı eklendi. Bypasslar süresince her anastomoz sonrası artan greftler bu solüsyonda bekledi. Her distal koroner anastomozunda kaçak kontrolü için safen greft, kanlı ve kansız salin ile tekrar şişirildi. Proksimal anastomozlara geçmeden önce boy ayarlaması için tekrar şişirildiler. Tüm bu koroner bypassın distal anastomoz süreci, her hastada değişmekle birlikte ortalama 1 saat sürdü.

Çalışma grubu (işlem sonrası) için, en son ayrılan ve artan safen venin kanüle en uzak ezilmemiş kısmından yaklaşık 2 cm uzunlukta düzgün bir kesi ile safen ven alındı. Alınan parçadan bistüri ile ışık mikroskopisi için 1 cm'lik bir numune daha ayrıldı. mTOR çalışılacak biyokimya numunesi uygun boyuttaki boş eppendorf tüpüne konuldu ve beklemeden buz kalıbı eşliğinde aynı binadaki genetik laboratuvarındaki -80°C derin dondurucuya transfer edildi. Işık mikroskopisi için alınan numune, doku takip kasetine alındı ve %10 formaldehit içeren kapaklı kutuya konularak buz kalıbı eşliğinde histoloji laboratuvarına transfer edildi.

### 3.7. Biyokimyasal Çalışma (mTOR Çalışması)

Materyal toplama süreci tamamlandıktan sonra, 44 hastanın kontrol ve çalışma numuneleri genetik laboratuvarındaki -80°C derin dondurucudan alındı. Uygun kutu ve donanımlar sağlanarak, numuneler en kısa sürede MEÜ Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'na transfer edildi. Numuneler, -80°C derin dondurucuda muhafaza edildi.

#### 3.7.1. Materyal

##### 3.7.1.1. Sarf Malzemeleri

Aprotinin (A2132, AppliChem, Almanya)  
Benzamidin (B6506, Sigma Aldrich, Amerika)  
Bradford reajanı (B6916, Sigma Aldrich, Amerika)  
Ditiyotreytol (A2948, AppliChem, Almanya)  
DNA saklama kutusu (81 gözlü) (3122278, Greiner, Almanya)  
Düz tabanlı, 96 kuyucuklu kültür plakları (655160, Greiner, Almanya)  
Eppendorf tüp (1.5 ml) (616201, Greiner, Almanya)  
Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (A2937, AppliChem, Almanya)  
HEPES (A3724, AppliChem, Almanya)  
Kültür plağı için yapışkanlı kapak (676001, Greiner, Almanya)  
Löpeptin (L9783, Sigma Aldrich, Amerika)  
mTOR ELISA kiti (MBS2505637, MyBiosource, Amerika)  
Otomatik pipet (100-1000 µl) (Socorex, İsveç)  
Otomatik pipet (0-10 µl) (Socorex, İsveç)  
Otomatik pipet (2-20 µl) (Socorex, İsveç)  
Otomatik pipet (20-200 µl) (Socorex, İsveç)  
Otomatik pipet (Stepper 411, Adjustable Repeater Pipette) (411.5000, Socorex, İsveç)  
Pipet ucu (3686290, Greiner, Almanya)  
Pipet ucu (beyaz) (770291, Greiner, Almanya)  
Pipet ucu (mavi) (686290, Greiner, Almanya)  
Pipet ucu (sarı) (3685290, Greiner, Almanya)

Sığır serum albümini (SSA) (A7906, Sigma Aldrich, Amerika)

Sodyum ortovanadat (A2196, AppliChem, Almanya)

### 3.7.1.2. Teçhizat

Derin dondurucu (dik tip, -80 °C) (Ilshin, Kore)

Derin dondurucu (dikey, 240 L, -20 °C) (2041 ND, Arçelik, Türkiye)

Derin donduruculu buzdolabı (Model 1060 T, Arçelik, Türkiye)

Derin donduruculu buzdolabı (Model 4240 T FH, Arçelik, Türkiye)

Hassas terazi (Model APX 200, Denver, Almanya)

Homojenizatör (Ultra-Turrax, T25, Ika, Almanya)

Manyetik karıştırıcı (*BOE 8056500 magnetic stirrer*) (MMS-3000, ACAadapter 220V, Boeco, Almanya)

pH metre (Orion 3 Star, Thermo, Amerika)

Plak okuma cihazı (405, 450, 490, 550 ve 630 nm olmak üzere beş adet filtreli) (ELX800, Biotek, Türkiye)

Soğutmalı santrifüj (Model Mikro 22R, Hettich, Almanya)

Soğutmalı Santrifüj (Model H1850R, Cence, Almanya)

Ultrasonik banyo (ısıtmalı, frekans ayarlı) (Elmasonic S 40 / (H), Elma, Almanya)

### 3.7.2. Yöntem

#### 3.7.2.1. Dokuların Homojenize Edilmesi ve Doku Homojenatı Süpernatantlarının Hazırlanması

Doku homojenatı süpernatantlarının hazırlanmasında daha önce tanımlanan yöntemler kullanılmıştır<sup>76</sup>. Doku üzerine 1.5 ml HEPES tamponu (mM: HEPES 20 [pH 7.5],  $\beta$ -gliserofosfat 20, sodyum pirofosfat 20, benzamidin 10, ditiyotritol 1, sodyum ortovanadat 0.2, sodyum florür 20, etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) 2, löpeptin 20 ve aprotinin 10) eklenerek örnekler homojenize edilmiştir. Homojenatlar, 23.910 x g'de 10 dakika, 4°C'de santrifüj edildikten sonra süpernatantlar toplanmış, üzerlerine 50 ml tris (50 mM, pH 8.0)+ KCl (0.5 M) çözeltisi eklenmiştir. Ardından, süpernatantlar ardışık olarak

2 kez 15 saniye su banyosu sonikatöründe bekletilmiş ve 23.910 x g'de 15 dakika, 4°C'de santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar -80°C'de dondurularak saklanmıştır.

### **3.7.2.2. Doku Homojenatlarından Hazırlanan Süpernatantlarda Toplam Protein Düzeyinin Belirlenmesi**

Doku homojenatlarından hazırlanan süpernatantlarda toplam protein düzeyi Bradford yöntemi ile ölçülmüştür<sup>77</sup>. Standart olarak kullanılacak SSA %1 (a/h) biçiminde distile suda hazırlanan stok çözeltisinden, 0-50 mg/ml SSA içeren dizi dilüsyonları hazırlanmış ve toplam hacimleri distile su ile 800 ml'ye ayarlanmıştır. Aynı biçimde, 5 ml süpernatant üzerine 795 ml distile su eklenerek 800 ml hacminde çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler üzerine 200 µl Bradford reaktanı eklenmiş, ardından bu çözeltilerden alınan 100 µl örnek (aynı örnekten 2 kez olmak üzere) kültür plağına aktarılmış ve örneklerin verdikleri absorbanslar, kültür plağı okuyucunda 630 nm'de okunmuştur. SSA derişimlerine karşı elde edilen absorbanslardan yararlanılarak, doğrusal regresyon yöntemi ile SSA'nın kalibrasyon doğru denklemleri belirlenmiş ve bu denklemlerden yararlanılarak, örneklerde okunan absorbans değerlerinden protein düzeyleri hesaplanmıştır.

### **3.7.2.3. Doku Homojenatlarından Hazırlanan Süpernatantlarda mTOR düzeylerinin ölçülmesi**

İnsan safen ven dokularında mTOR etkinliğinin göstergesi olarak mTOR düzeyleri uygun kit kullanılarak, prospektüslerinde belirtildiği biçimde ELISA yöntemi ile ölçülmüştür.

## **3.8. Histopatolojik İncelemeler**

### **3.8.1. Dokuların Elde Edilişi ve Doku Takibi**

Koroner bypass cerrahisi sırasında ven greft hazırlığı işleminden önce ve sonra alınan insan safen ven dokuları, %10'luk tamponlanmış nötral formalin

solüsyonunda 72 saat bekletilerek tespit edildi. Fikse edilen dokular, akarsuda 2 saat yıkandıktan sonra aşağıdaki ışık mikroskopik doku takip protokolüne göre takip edildi.

1.	Etil Alkol (%70)	45 dakika
2.	Etil Alkol (%80)	45 dakika
3.	Etil Alkol (%90)	45 dakika
4.	Etil Alkol (%96)	45 dakika
5.	Etil Alkol (%96)	45 dakika
6.	Etil Alkol (%96)	45 dakika
7.	Etil Alkol (%96)	45 dakika
8.	Ksilen	15 dakika
9.	Ksilen	15 dakika
10.	Ksilen/Parafin(1/1)	1 saat
11.	Parafin	1 saat
12.	Parafin	2 saat
13.	Bloklama	

Parafin blok haline getirilen dokulardan, Rotary mikrotom (Leica, 2125RT) ile 5 µm kalınlığında kesitler adeziv lamlara alındı. Alınan kesitler deparafinize edildikten sonra, hematoxilen - eozin ile aşağıdaki boyama protokollerine göre boyandı.

1.	Etil Alkol (%96)	10 dakika
2.	Etil Alkol (%90)	10 dakika
3.	Etil Alkol (%80)	10 dakika
4.	Distile su	2-3 dakika
5.	Hematoxilen	1 dakika
6.	Akarsuda yıkama	5 dakika
7.	Asit alkol	3 saniye
8.	Distile su	1 dakika
9.	Amonyaklı su	3 saniye
10.	Distile su	1 dakika
11.	Eozin	3 dakika
12.	Distile su	1 dakika

13. Etil Alkol (%80) 10 saniye
14. Etil Alkol (%90) 10 saniye
15. Etil Alkol (%96) 10 saniye
16. Ksilen 15 dakika
17. Ksilen 15 dakika
18. Entellan ile kapatma

Boyanan kesitler, ışık mikroskobu (Olympus BX50 Olympus GmbH, Almanya) ile incelendi ve dijital kamera (Olympus LC30 Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Almanya) ile fotoğraflandı.

### 3.9. Araştırmanın Planı ve Takvimi

Araştırma planı	TEMMUZ 2021	OCAK 2022	AĞUSTOS 2022	EYLÜL 2022	MAYIS 2023	TEMMUZ 2023	EYLÜL 2023	KASIM 2023	OCAK 2024	HAZİRAN 2024	TEMMUZ 2024	AĞUSTOS 2024
Tez konusu	X											
Literatür araştırması		X										
Etik kurul başvurusu			X									
Etik kurul onayı			X									
Çalışma Numunesi Toplanması				X	X	X	X					
Bilimsel araştırma projesi onayı					X							
Çalışma planlama, malzeme temini						X	X	X				
Biyokimyasal Çalışma									X			
Histopatolojik İnceleme										X		
İstatistiksel analiz											X	
Tez yazımının tamamlanması												X
Tez savunması												X

### 3.10. Veri Toplama Araçlarının Değerlendirilmesi

Verilerin çözümlenmesinde, sürekli yapıdaki veri yapılarına ilişkin istatistik yapılırken ortalama ve standart sapma, özelliklerin minimum ve maksimum değerleri; kategorik değişkenleri tanımlarken ise frekans ve yüzde değerleri verilmiştir.

mTOR protein düzey ölçüm ortalamalarının zamana göre değişimini (işlem öncesi ve işlem sonrası) değerlendirmede paired t test istatistiği kullanılmıştır.

Verilerin istatistiksel açıdan anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

Verilerin değerlendirilmesinde IBM SPSS 25 version istatistik paket programları kullanılmıştır.

Sürekli ölçümlerde Merkezi Limit Teoremi uygunluk nedeniyle parametrik testler kullanılmıştır<sup>87</sup>.

Veri kullanılabilirliği bildiri; mevcut çalışma sırasında oluşturulan ve/veya analiz edilen veri kümeleri, makul talep üzerine ilgili yazardan temin edilebilir.

### 3.11. Araştırmanın Sınırlılıkları

Çalışmamızdaki safen venlerin greft olarak hazırlanırken cerrahi manipülasyona maruz kalma süreleri, vakada yapılan bypass sayısına göre değişmektedir.

Bypass sonrası pulsatil akıma ve reperfüzyona maruz kalan safen ven duvarındaki mTOR aktivasyonunu bilmemekteyiz.

Ayrıca, araştırma modelimizde rapamisin kullanılamaması ve histolojik incelemelerin istatistiksel çalışma yapılacak sayıda olmaması, araştırmamızın sınırlılıkları arasında yer almaktadır.

### 3.12. Etik Kurul Onayı

Araştırmamızın gerçekleşmesinde, T.C. Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 03.08.2022 tarihli ve 2022/604 sayılı

kurul kararı ile etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verilmiştir. Etik kurul onayları eklenmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Hasta Tanımlayıcı Bulguları

Çalışmaya 44 koroner bypass hastası dahil edilmiştir. Hastaların yaşı minimum 36, maksimum 70 olup, ortalama yaş ve sapma değeri  $60.8 \pm 8.3$  idi. Hastaların %13.6'sı kadın, %86.4'ü erkekti. Hastaların %63.6'sında sigara kullanımı mevcutken, kronik hastalık durumlarında %47.7'sinde diabetes mellitus (DM), %43.2'sinde hipertansiyon (HT) ve %63.6'sında hiperlipidemi (HL) tanısı vardı. Kreatinin (mg/dL) ölçümü minimum 0.40, maksimum 1.80 değerinde iken, ortalama ve standart sapma değeri  $0.78 \pm 0.25$  idi. Ejeksiyon Fraksiyonu (EF) ölçümü minimum 30, maksimum 65 iken, ortalama ve standart sapma değeri  $50.9 \pm 7.8$  idi.

**Tablo 2.** Hasta Tanımlayıcı İstatistikleri (n=44)

	Mean±SD	Min-Max
<b>Yaş</b>	60.8±8.3	36-70
<b>Kreatinin (mg/dL)</b>	0.78±0.25	0.40-1.80
<b>EF</b>	50.9±7.8	30-65
	Sayı (n)	Yüzde (%)
<b>Cinsiyet</b>		
Erkek	38	86.4
Kadın	6	13.6
<b>Sigara Kullanım</b>		
Yok	16	36.4
Var	28	63.6
<b>DM</b>		
Yok	23	52.3
Var	21	47.7
<b>HT</b>		
Yok	25	56.8
Var	19	43.2
<b>HL</b>		

Yok	16	36.4
Var	28	63.6

DM : Diabetes Mellitus HT : Hipertansiyon HL : Hiperlipidemi EF : Ejeksiyon Fraksiyonu

#### 4.2. Biyokimyasal / mTOR Çalışma Bulguları

Biyokimya numuneleri -80°C derin dondurucuda saklanmış ve hedef sayıya ulaşıncaya Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'na uygun koşullarda transfer edilerek teslim edilmiştir.

Gereç ve yöntemler kısmında belirtilen sarf malzemeler ve ekipman ile doku homojenatı süpernatantlarının hazırlanmasında daha önce tanımlanan yöntemler kullanılmıştır<sup>76</sup>. Doku homojenatlarından hazırlanan süpernatantlarda toplam protein düzeyi Bradford yöntemi ile ölçülmüştür<sup>77</sup>. İnsan safen ven dokularında mTOR etkinliğinin göstergesi olarak mTOR düzeyleri uygun kit kullanılarak prospektüslerinde belirtildiği şekilde ELISA yöntemi ile ölçülmüştür.

**Tablo 3.** Manipüle Edilmemiş Safen Ven ile Manipülasyondan Sonraki Safen Ven mTOR Protein Ölçüm Ortalamaları Arasında Fark Değerlendirmesi

	İşlem Öncesi	İşlem Sonrası	p değeri
	<b>Ortalama±Standart</b>	<b>Ortalama±Standart</b>	
	<b>Sapma</b>	<b>Sapma</b>	
mTOR(ng/ml/mg protein)	7.02±2.51	7.51±2.78	0.41

Paired t test

Greft ven hazırlığı işleminden önce ve sonraki safen venin mTOR protein ölçüm ortalamaları arasında fark durumu değerlendirildiğinde;

Koroner bypass cerrahisi için işleme başlamadan önce alınan manipüle edilmemiş safen venin mTOR(ng/ml/mg protein) ortalama ve standart sapma değeri 7.02±2.51 iken, işlemten sonra alınan safen venin mTOR (ng/ml/mg protein) ortalama ve standart sapma değeri 7.51±2.78 idi . İşlem öncesi ve sonrası mTOR (ng/ml/mg protein) ölçüm ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (p=0.41>0.05). Sonuç olarak, safen venin greft olarak

hazırlanmasında gelişen hasarın mTOR aktivasyonunu etkilemediği görülmüştür.

#### **4.2.1. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi**

Verilerin çözümlenmesinde, sürekli yapıdaki veri yapılarına ilişkin istatistik yapılırken ortalama ve standart sapma, özelliklerin minimum ve maksimum değerleri; kategorik değişkenleri tanımlarken ise frekans ve yüzde değerleri verilmiştir.

mTOR protein düzey ölçüm ortalamalarının zamana göre değişimini (işlem öncesi ve işlem sonrası) değerlendirmede paired t test istatistiği kullanılmıştır.

Verilerin istatistiksel açıdan anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

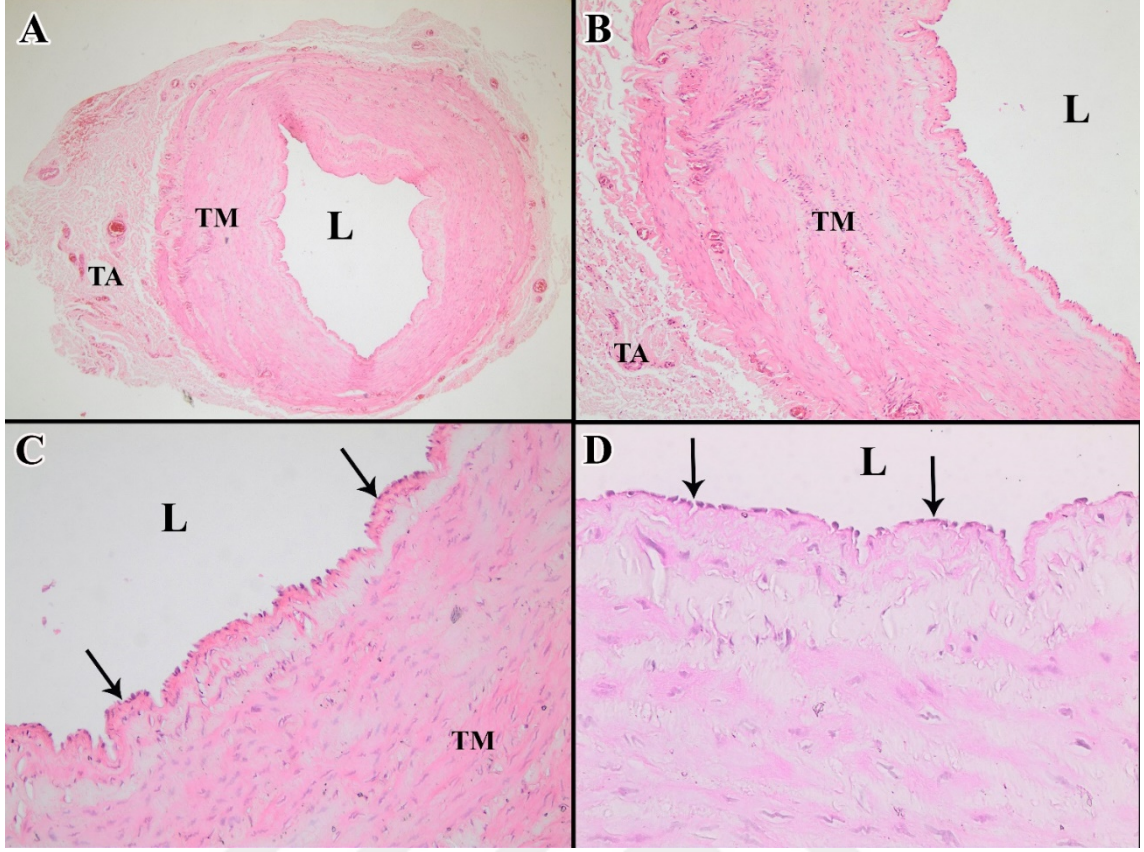
Verilerin değerlendirilmesinde IBM SPSS 25 istatistik paket programı kullanılmıştır.

Sürekli ölçümlerde Merkezi Limit Teoremi uygunluk nedeniyle parametrik testler tercih edilmiştir<sup>87</sup>.

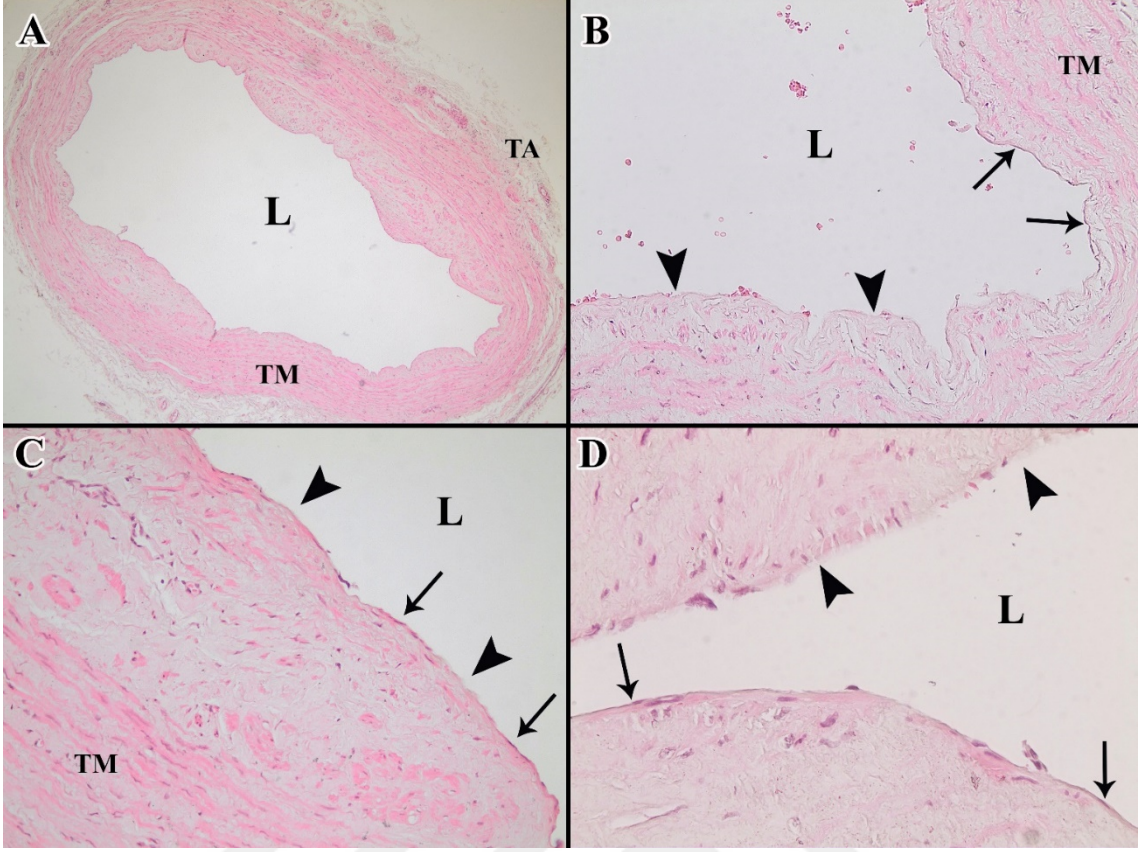
#### **4.3. Histopatolojik İnceleme Bulguları**

Işık mikroskopik incelemeler için işlem öncesi venlerden hazırlanan ve hematoksilin - eozin boyası ile boyanan kesitler incelendiğinde, tunika intima, tunika media ve tunika adventisya normal yapıda izlendi. Tunika intimada, endotel hücrelerinin normal yapıda olduğu gözlemlendi (Resim 2).

İşlem sonrası gruba ait kesitlerde, tunika intima tabakasında bölgesel endotelyal hücre kaybı gözlemlendi. Ayrıca, endotel hücrelerinin şekillerinin daha içsi ve elonge yapıda olduğu saptandı (Resim 3).



**Resim 2.** İşlem öncesi gruba ait (kontrol) safen vende lümen (L), endotel (ok), tunika medya (TM) ve tunika adventisya (TA). A) x40; B) x100; C) x200; D) x400, H&E



**Resim 3.**İşlem sonrası gruptaki (çalışma) safen vende lümen (L), içsi ve elonge endotel hücreleri (ok), endotel kaybı olan bölgeler (ok başı), tunika medya (TM) ve tunika adventisya (TA). A) x40; B) x100; C) x200; D) x400, H&E

## 5. TARTIŞMA

Aterosklerotik kalp hastalıkları günümüzde hala önemli mortalite ve morbidite sebepleri arasında yer almaktadır. Koroner bypass cerrahisinin uygulanmaya başlanmasından bu yana perkütan koroner girişimlerde önemli gelişmeler yaşansa da, KABG cerrahisinin diyabetik ve çoklu lezyona sahip hastalarda perkütan koroner girişimlere üstün olduğu literatürde belirtilmiştir<sup>78</sup>.

KABG cerrahisinde revaskülarizasyon, hastadan alınan damar greftleri ile gerçekleştirilir. 1960'lı yılların sonlarında safen venin aortokoroner bypasslarda rutin kullanımı başlamıştır ve günümüzde de tercih edilmektedir. İMA, radyal arter, gastroepiploik arter gibi arteriyel greftlerin kullanımı zaman içinde cerrahiye kazandırılmıştır. Arteriyel greftlerin, venöz greftlere göre açık kalma oranları daha yüksektir. Öyle ki, İMA grefti kullanımı seçili hastalarda altın standart haline gelmiştir<sup>79</sup>. KABG cerrahisine alınan hastaların geneli çoklu damar lezyonuna sahip olduğundan, arteriyel greftlerin yetersiz kalması nedeniyle venöz greft kullanımı yaygındır. BSV, uzun olması, seri çıkarılabilmesi ve spazmdan az etkilenmesi özellikleriyle venöz greft tercihinde ilk seçenektir. Günümüzde yapılan KABG vakarının %80'inden fazlasında kullanılmaktadır<sup>22</sup>.

Safen venin yaygın kullanımı, safen ven greftlerinin açık kalma oranlarının önemine dikkat çeker. Cerrahi sonrası ilk bir yılda safen ven greftlerinin %15'i oklüde olurken, 10 yılda bu oran %50-60'lara çıkmaktadır<sup>29</sup>. Ven greft yetmezliğinin risk faktörleri arasında demografik özelliklerden ileri yaş, kadın cinsiyet, sigara içmek, dislipidemi<sup>80</sup>, diyabet<sup>81</sup> ve kronik böbrek hastalığı<sup>82</sup> yer alır. Venin kalitesinin düşük olması ve önceden var olan medial hiperplazi gibi safen venin direkt kendisinden kaynaklanan değişiklikler de önemlidir<sup>83</sup>. Bypassın yapılacağı doğru arteriyel segmentin seçimi (run-off) ve anastomoz tekniği, operatör kaynaklı ven greft başarısızlığı nedenlerinden sayılabilir. Venin greft olarak hazırlığı sırasında geçirdiği işlemlerin greft yetmezliğine etkisi, üzerinde sıkça çalışılan bir konudur. Çalışmamız da bunun üzerine şekillenmiştir.

Safen venin greft olarak hazırlığında, bacadan açık cerrahi ile çıkarılırken istenmeden gerçekleşen mekanik manipülasyonlar, kaçak kontrolü sırasında şişirilmesi ve operasyon sürecinde kanlı salin içinde beklemesi, ven

intiması üzerinde bir dizi oksidatif ve inflamatuvar mekanizmayı tetiklemektedir. Ayrıca cerrahi manipülasyonlar, ven endoteli üzerinde yer yer kayıplara ve hücrelerin yassı içsi bir görünüm almasına neden olmaktadır. Çalışmamızdaki histopatolojik değerlendirmelerde manipülasyona uğramış safen ven kesitlerinde bu değişiklikleri sınırlı sayıda örnekte gözlemledik ve bulgularımızla uyumlu kesitleri çalışmamıza ekledik.

Canlı ve sağlam bir endotel birçok koruyucu rol üstlenir. Endotelden salınan NO, vazodilatasyonu artırır ve trombosit kümelenmesini önler. İşlevsiz bir endotel ise protrombotik karakterdedir ve dolaşımdaki büyüme faktörleri salgılayacak olan trombosit ve lökositleri bağlayarak hiperplastik lezyon gelişimine katkıda bulunur. Bu endotelyal soyulma, oksidatif ve inflamatuvar değişikliklerle açığa çıkan trombojenik, kemotaktik ve vazokonstriktör ajanlar aracılığıyla akut dönemde trombüs oluşumuna neden olabilir<sup>30,37</sup>. Çalışma grubumuzda saptadığımız endotelyel kayıplar ve hücre yassılaştırmaları, manipülasyona uğramış safen venin akut döneminde yaşadığı mekanik hasarın göstergesi olarak kabul edilebilir.

Greft hazırlığı evresinde başlayan oksidatif ve inflamatuvar değişikliklerin etkisi, greft pulsatil arteryel dolaşıma kazandırılınca değişen kan reolojisi ile birlikte artacaktır. Sitokinler ile uyarılmış düz kas hücreleri çoğalarak intima tabakasına doğru hareket eder<sup>83</sup>. Medya ve adventisyada bulunan monositler, makrofaj özelliği kazanarak endotele doğru hareket eder. Bağ dokusu hücreleri de miyoblasta dönüşür. Yaşanan matriks dönüşümü, intimal hiperplazi ile sonuçlanır. İntimal hiperplazi, bypass sonrası ilk iki yılda görülen greft yetmezliği nedenlerinden biridir<sup>47</sup>.

Enflamatuvar medyatörler, ven greftinin değişim süreçlerinde kritik bir öneme sahiptir. Örneğin, ven greft yetmezliği üzerine yapılan bir fare deneyi modelinde TLR4(Toll Benzeri Reseptör 4)'ün genetik silinmesi, inflamasyonu baskılamış ve intimal hiperplazi azalmıştır<sup>38</sup>. Enflamatuvar araçların etkisi, uzun dönem greft değişikliklerinde de gözlenir. Hiperkolesterolemik farelerde uygulanan bir damar grefti modelinde, TIMP1(Metalloproteinazların doku inhibitörü)'in düzenlenmesi, anneksin-5, mast hücreleri ve C5a gibi inflamatuvar faktörlerin hedeflenmesi, ateroskleroz ve plak rüptürünü azaltmıştır<sup>49,50</sup>.

Ven greft yetmezliğinde rol oynayan inflamatuvar araçlar ve reaktif oksijen türleri ile ilgili pek çok çalışmaya, yaptığımız literatür taramasında rastladık.

Buna rağmen, PIKK (Fosfatidilinositol 3-Kinazla İlişkili Kinazlar) ailesine ait bir tirozin kinaz olan mTOR'un bu süreçteki aktivasyonuna yönelik bir çalışmaya ulaşamadık. Günümüzde mTOR inhibitörü olarak kullanılan Rapamisin (Sirolimus) ve türevleri, sayısız kanser türünde, ailesel sendromlarda, organ reddinin önlenmesinde ve ilaç kaplı stentlerde kullanım alanı bulmuştur. Temelde etkilerini hücre proliferasyonunu önleyerek ve apoptoza teşvik ederek göstermektedir<sup>71</sup>. Rapamisin ve türevlerinin etki mekanizması ve kullanım alanları tanımlanmış olmasına rağmen, mTOR komplekslerinin normal işleyişi ve patofizyolojik süreçlerdeki rolleri halen yoğun araştırma konusudur. Son yıllarda hayvan modelleriyle gerçekleştirilen çalışmalar, mTOR yolunun, oksidatif ve inflamatuvar mekanizmaların tetiklendiği patolojilerde aktif rol aldığını ve bu süreçlerin önüne mTOR inhibitörleri ile geçilebildiğini göstermiştir. Bu gelişmeler, bizi koroner bypass cerrahisinin önemli bir konusu olan ven grefti yetmezliğinin ilk basamağında mTOR'un etkisini araştırmaya yönlendirdi.

Safen ven hazırlanırken adventisyasındaki vazo-vazorumların bütünlüğünü yitirmesi, media tabakasındaki düz kas hücrelerinin normal işlevlerini kaybetmesi ve en önemlisi endotel hücrelerinin yer yer silinmesi ile oluşan morfolojik ve fonksiyonel bozukluk, NOS enziminin azalması ile sonuçlanır. Dolayısıyla L-arginin'den sentezlenen NO düzeyi azalacaktır. Potent bir vazodilatör olan NO'nun, trombosit agregasyonunu ve lökosit adezyonunu önleyici etkileri vardır<sup>84</sup>. Fare arterlerinde yapılan bir çalışmada, hidrojen peroksit ile 3 saat işlem gören damar preparatlarında mTOR aktivasyonunda artış ve mTOR inhibitörü eklenen örneklerde NO seviyesinde ve kasılma fonksiyonlarında iyileşme gözlenmiştir<sup>14</sup>.

Endotelial kaybın bir sonucu olarak, altta yatan ekstrasellüler matriks proteinleri dolaşıma maruz kalır ve trombojenik lüminal yüzeyde trombosit ve fibrin birikimi teşvik edilir. Doku faktörü, trombin oluşumunu başlatmak için kullanılabilir hale gelir ve ven duvarındaki bozulmuş NO ve prostasiklin üretimi, trombosit agregasyonunu daha da artırır<sup>30</sup>. Aslan ve arkadaşları, insan trombositlerinin aktivasyon ve agregasyonunda mTOR sinyallemesinin etkili olduğunu göstermiştir<sup>85</sup>. Yine başka bir çalışma antifosfolipit sendromunda trombosit hiperaktivitesine mTORC2 yolunun yukarı regülasyonu eşlik etmiştir<sup>86</sup>.

Safen ven greft başarısızlığının sürekliliği, damarın maruz kaldığı iskemik süreç ve sonrasında gelen reperfüzyon ile ilişkilidir. Cerrahi hazırlık evresinde

yaşanan mekanik hasar, endotelial soyulmayla birlikte ekstrasellüler matrikste hasara neden olur. Ardından gelen reperfüzyon süreciyle ekstrasellüler matriks proteinleri kan akışına maruz kalır ve trombositleri aktive eder. Bunun sonucunda kemotaktik, trombojenik ve vazokonstrüktör ajanlar açığa çıkar<sup>22</sup>. İskemi ve reperfüzyonun modellendiği bir fare deneyinde; 4 saatlik iskemik sürece maruz bırakılan fare arka bacaklarında, 4 saatlik reperfüzyon sonrası açığa çıkan oksidatif-nitrozatif stres ve inflamatuvar yolaklardaki değişimler mTOR sinyali ile ilişkilendirilmiş ve mTOR'un seçici inhibitörü Rapamisin ile değişiklikler tersine çevrilmiştir<sup>90</sup>.

Çalışmamızda, cerrahi ven hazırlığına başlamadan önce mekanik hasara ve iskemiye maruz kalmayan safen venleri işlem öncesi grup olarak ayırdık. Yaklaşık 1 saatlik cerrahi hazırlık ve distal bypasslar sonrası artan safen venlerini ise işlem sonrası grup olarak ayırdık. Aynı hastaya ait iki numune arasındaki mTOR protein ölçümlerini yaptık. İşlem sonrasındaki mTOR değerleri bir miktar yüksek olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmadı. Çalışmaya aldığımız safen venlerin ortalama iskemi sürelerinin 1 saat olduğunu düşündüğümüzde, mTOR sinyal aktivasyonu için yetersiz kaldığını görmekteyiz. Reperfüzyon sonrası oluşabilecek mTOR sinyal aktivasyonunu ise mevcut insan deneyi modelimizde göstermek mümkün görünmemektedir.

Oksidoinflamatuvar değişimlerin gerçekleştirildiği çalışmalarda, bu yolaklar zymosan, lipopolisakkarit, DOCA tuzu gibi ekzojen kaynaklarla uyarılmıştır. Bu maruziyetlerin en az 4 saati aştığı ve bazı çalışmalarda haftalarla ölçüldüğünü görmekteyiz<sup>10,15,70</sup>. Çalışmamızda oksidatif stresi artıracak ekzojen bir ajan kullanmamış olmamız, rutin prosedürümüzde olduğu gibi maksimum özenle ven greft hazırlığı yapmamız ve sürecin ortalama 1 saat arası sürmesi gibi sebeplerle sonuçlarda anlamlı değişiklik saptamadığımızı düşünmekteyiz.

mTOR, spesifik adaptör proteinlerle etkileşime girer. mTORC1 ve mTORC2 olarak iki farklı makromoleküler kompleks oluşturur. Çalışmalar, kardiyovasküler sistemde mTOR'un farklı kompleksler aracılığıyla hem uyumsuz hem de uyarlanabilir roller üstlendiğini göstermektedir<sup>55</sup>. mTOR'un alt birimlerinin patofizyolojik süreçlerde rolleri günümüzde halen araştırma konusudur. Çalışmamızda mTOR'un hangi altbirimlerinin aktive olduğu

bilinmemektedir. İşlem öncesi ve sonrası safen venlerdeki mTOR protein ölçümlerinde anlamlı bir fark bulunmamasında, mTOR'un farklı altbirimlerinin aktif olmuş olabileceği ihtimali de değerlendirilebilir.

Araştırmamıza kaynak olarak gösterilen çalışmalarda simüle edilen patofizyolojik süreçlerin, rapamisin ile tersine çevrilebildiği görülmüştür; bu nedenle mTOR sinyali ile ilişkili bulunmuştur. Araştırmamızın en önemli sınırlılığı, rapamisin uygulama imkânımızın olmamasıdır. mTOR sinyali ile bağlantılı patofizyolojik yollarda, mTOR'un aktivasyon süresini ve alt komplekslerinin kaskattaki diğer moleküllerle bağlantılarını açıklayan çalışma ve analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Koroner bypass cerrahisinde uzun vadeli başarı, ven greftlerinin açıklığına bağlıdır. Postoperatif dönemde yaşanan ven greft yetmezliği, yaşam süresi ve kalitesini etkileyen önemli bir sorundur. Çalışmamızda güncel literatürden edindiğimiz verilerle ven greft yetmezliğinin patofizyolojik mekanizmalarına detaylı değindik. Bugün, ven greft hazırlığında klasik uygulamalar ve cerrahi manipülasyonların, ven greft yetmezliğine olan olumsuz etkisini bilmekteyiz. Bu olumsuz etkilerin önüne geçmek için zaman içinde pediküllü çıkarma, dokunmadan teknik, soğuk koruma solüsyonları kullanılması gibi uygulamalar geliştirilmiştir. Akut dönemde gelişen ve geç dönem yetmezliklerine de öncü olan endotel hasarı ve oksidoinflamatuar hasarın gelişmesinde hangi moleküllerin aracı olduğuna dair yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamız, bir sinyal molekülü olan ve enflamatuvar aracı rolleri bilinen mTOR'un insan safen veninde gösterilmesi açısından bu alandaki eksikliğe örnek teşkil etmektedir. Umudumuz gelecekte safen venlerde mTOR aktivasyonunun, daha geniş çalışma gruplarıyla ve reperfüzyon sürecinin de dahil edildiği bir modelde gösterilmesidir. Böylece mTOR'un spesifik inhibitörleri ile ven greft yetmezliğinin diğer faktörlerden bağımsız engellenebileceğini düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ

Koroner bypass cerrahisinin başarıyı etkileyen en önemli sorunu, ven greft yetmezliği olarak görülmektedir. Açık cerrahi yöntemle safen venin greft olarak hazırlığında, ven lümeninde erken dönemde endotel hasarı ve oksidoinflamatuar değişiklikler başlamaktadır. Cerrahi greft hazırlığı işleminden geçen safen venlerde ışık mikroskopisinde endotelial soyulma ve hücre yassılaştırmalarını çalışmamızda görmekteyiz. Morfolojik değişiklikler haricinde gelişen nitrik oksit seviyelerinde düşme ve enflamatuvar markerlarda artışlar, erken dönem ve geç dönem ven greft yetmezliklerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Hücre içi bir sinyal molekülü olan mTOR'un inhibe edildiği çalışmalarda ve hayvan deneylerinde enflamasyonda azalma, hücre proliferasyonunda azalma ve oksidatif stresin yarattığı değişikliklerde geriye dönüş gözlenmektedir. Çalışmamızda açık cerrahi ven greft hazırlığından geçen safen venlerdeki mTOR değerlenlerinde, işlem öncesi değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmedi. Bu veriye göre mTOR aktivasyonunu gözlemlemek için 1 saatlik işlem süresinin yetersiz olduğu ve mTOR'un farklı alt komplekslerinin aktive olmuş olabileceği sonucuna vardık. Daha geniş çalışma grupları ile sadece iskemi sonrası değil, iskemi reperfüzyon sonrası safen venlerde mTOR protein ve ilgili komplekslerinin ölçümünün gerçekleştirilmesi gerektiği kanaatine vardık.

## 7. KAYNAKLAR

1. Raja SG, Haider Z, Ahmad M, Zaman H. Saphenous vein grafts: to use or not to use? *Heart Lung Circ.* 2004 Dec;13(4):403-9.
2. Duran E, Halıcı Ü. Dünyada kalp-damar cerrahisinin tarihçesi. Duran E (Editör). *Kalp ve Damar Cerrahisi'nde.* İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004. s.3-13.
3. Fitzgibbon GM, Kafka HP, Leach AJ, Keon WJ, Hooper GD, Burton JR. Coronary bypass graft fate and patient outcome: angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival and reoperation in 1,388 patients during 25 years. *J Am Coll Cardiol.* 1996 Sep;28(3):616-26.
4. Favaloro RG. Saphenous vein autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion: operative technique. *Ann Thorac Surg.* 1968 Apr;5(4):334-9.
5. Tsui JC, Souza DS, Filbey D, Karlsson MG, Dashwood MR. Localization of nitric oxide synthase in saphenous vein grafts harvested with a novel "no-touch" technique: potential role of nitric oxide contribution to improved early graft patency rates. *J Vasc Surg.* 2002 Feb;35(2):356-62.
6. Bonchek LI. Prevention of endothelial damage during preparation of saphenous veins for bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1980 Jun;79(6):911-5.
7. Fitzgibbon GM, Kafka HP, Leach AJ, Keon WJ, Hooper GD, Burton JR. Coronary bypass graft fate and patient outcome: angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival and reoperation in 1,388 patients during 25 years. *J Am Coll Cardiol.* 1996 Sep;28(3):616-26.
8. Osgood MJ, Hocking KM, Voskresensky IV et al. Surgical vein graft preparation promotes cellular dysfunction, oxidative stress, and intimal hyperplasia in human saphenous vein. *J Vasc Surg.* 2014 Jul;60(1):202-11. doi: 10.1016/j.jvs.2013.06.004. Epub 2013 Jul 30. PMID: 23911244; PMCID: PMC3926896.
9. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell.* 2017 Mar 9;168(6):960-976.
10. Temiz-Resitoglu M, Guden DS, Senol SP et al. Pharmacological Inhibition of Mammalian Target of Rapamycin Attenuates Deoxycorticosterone Acetate

Salt-Induced Hypertension and Related Pathophysiology: Regulation of Oxidative Stress, Inflammation, and Cardiovascular Hypertrophy in Male Rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2022 Mar 1;79(3):355-367.

11. Rajapakse AG, Yepuri G, Carvas JM et al. Hyperactive S6K1 mediates oxidative stress and endothelial dysfunction in aging: inhibition by resveratrol. *PLoS One*. 2011 Apr 22;6(4):e19237.

12. Rong Y, McPhee CK, Deng S et al. Spinster is required for autophagic lysosome reformation and mTOR reactivation following starvation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 May 10;108(19):7826-31.

13. Jiang J, Jiang J, Zuo Y, Gu Z. Rapamycin protects the mitochondria against oxidative stress and apoptosis in a rat model of Parkinson's disease. *Int J Mol Med*. 2013 Apr;31(4):825-32

14. Gao G, Li JJ, Li Y et al. Rapamycin inhibits hydrogen peroxide-induced loss of vascular contractility. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 May;300(5):H1583-94.

15. Sahan-Firat S, Temiz-Resitoglu M, Guden DS et al. Protection by mTOR Inhibition on Zymosan-Induced Systemic Inflammatory Response and Oxidative/Nitrosative Stress: Contribution of mTOR/MEK1/ERK1/2/IKK $\beta$ /I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B Signalling Pathway. *Inflammation*. 2018 Feb;41(1):276-298.

16. Taggart DP, D'Amico R, Altman DG. Effect of arterial revascularisation on survival: a systematic review of studies comparing bilateral and single internal mammary arteries. *Lancet*. 2001 Sep 15;358(9285):870-5.

17. Motwani JG, Topol EJ. Aortocoronary saphenous vein graft disease: pathogenesis, predisposition, and prevention. *Circulation*. 1998 Mar 10;97(9):916-31..

18. David P. Taggart, Coronary artery bypass surgery, *Medicine*, Volume 50, Issue 7, 2022, Pages 445-448, ISSN 1357-3039

19. Hillis LD, Smith PK, Anderson JL et al. 2011 ACCF/AHA Guideline for Coronary Artery Bypass Graft Surgery: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2011 Dec 6;124(23):2610-42.

20. First-year results of CABRI (Coronary Angioplasty versus Bypass Revascularisation Investigation). CABRI Trial Participants. *Lancet*. 1995 Nov 4;346(8984):1179-84. PMID: 7475656.

21. Bypass Angioplasty Revascularization Investigation (BARI) Investigators. Comparison of coronary bypass surgery with angioplasty in patients with multivessel disease. *N Engl J Med*. 1996 Jul 25;335(4):217-25.
22. Wolny R, Mintz GS, Pręgowski J, Witkowski A. Mechanisms, Prevention and Treatment of Saphenous Vein Graft Disease. *Am J Cardiol*. 2021 Sep 1;154:41-47.
23. Moore Keith L. Clinically oriented anatomy. USA. Williams & Wilkins seventh edition 2014; 532-535
24. [https://www.researchgate.net/figure/Anatomy-of-GSV-and-SSV-with-common-variants-of-SSV-GSV-great-saphenous-vein-SSV-short\\_fig1\\_312029707](https://www.researchgate.net/figure/Anatomy-of-GSV-and-SSV-with-common-variants-of-SSV-GSV-great-saphenous-vein-SSV-short_fig1_312029707)
25. Thiene G, Miazzi P, Valsecchi M et al. Histological survey of the saphenous vein before its use as autologous aortocoronary bypass graft. *Thorax*. 1980 Jul;35(7):519-22.
26. <https://app.lecturio.com/#!/article/3373?return=%23%2Fwelcome%3Ffv%3D1>
27. Altshuler P, Nahirniak P, Welle NJ. Saphenous Vein Grafts. 2023 Aug 28. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 30725720.
28. <https://cardiothoracicsurgery.biomedcentral.com/articles/10.1186/1749-8090-9-101/figures/1>
29. Goldman S, Zadina K, Moritz T, et al. VA Cooperative Study Group #207/297/364. Long-term patency of saphenous vein and left internal mammary artery grafts after coronary artery bypass surgery: results from a Department of Veterans Affairs Cooperative Study. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Dec 7;44(11):2149-56.
30. de Vries MR, Simons KH, Jukema JW, Braun J, Quax PH. Vein graft failure: from pathophysiology to clinical outcomes. *Nat Rev Cardiol*. 2016 Aug;13(8):451-70.
31. Mastroberto P., Frati G., Patti G., D'Ambrosio A., Di Sciascio G., Covino E., Pressure distension stimulates the expression of endothelial adhesion molecules in the human saphenous vein graft, *Ann Thorac Surg*, 76, 453-8, (2003).

32. Morgan J.A., Bisleri G., Cheema F.H., Akman H.O., Topkara V.K. et al. Effects of resveratrol in storage solution on adhesion molecule expression and nitric oxide synthesis in vein grafts, *Ann Thorac Surg*, 80,1773-8, (2005).
33. Kuoda S., Amano M., Regulation of cytoskeleton and cell adhesion by Rho family GTPases in mammalian cells, *Annu Rev Biochem*, 68, 459-486, (1999).
34. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities, *Atherosclerosis*, 173,1-12, (2004) .
35. Lum H, Roebuck KA. Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001 Apr;280(4):C719-41.
36. Weaver H, Shukla N, Ellinsworth D, Jeremy JY. Oxidative stress and vein graft failure: a focus on NADH oxidase, nitric oxide and eicosanoids. *Curr Opin Pharmacol*. 2012 Apr;12(2):160-5.
37. N. Sucu Et Al. , "İnsan Safen Veninde Statinlerin Antiaterojenik Etkilerinin Moleküler Mekanizması," Türk Kalp ve Damar Cerrahisi Derneği XI. Ulusal Kongresi , Antalya, Turkey, 2010
38. Karper JC, de Vries MR, van den Brand BT et al. Toll-like receptor 4 is involved in human and mouse vein graft remodeling, and local gene silencing reduces vein graft disease in hypercholesterolemic APOE\*3Leiden mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011 May;31(5):1033-40.
39. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*. 2010 May;11(5):373-84.
40. Hinokiyama K, Valen G, Tokuno S, Vedin JB, Vaage J. Vein graft harvesting induces inflammation and impairs vessel reactivity. *Ann Thorac Surg*. 2006 Oct;82(4):1458-64.
41. Khaleel MS, Dorheim TA, Duryee MJ et al. High-pressure distention of the saphenous vein during preparation results in increased markers of inflammation: a potential mechanism for graft failure. *Ann Thorac Surg*. 2012 Feb;93(2):552-8.
42. Nwasokwa ON. Coronary artery bypass graft disease. *Ann Intern Med*. 1995 Oct 1;123(7):528-45.
43. Davies MG, Hagen PO. Pathophysiology of vein graft failure: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1995 Jan;9(1):7-18.
44. Lau GT, Lowe HC, Kritharides L. Cardiac saphenous vein bypass graft disease. *Semin Vasc Med*. 2004 May;4(2):153-9

45. Szilagyi De, Smith Rf, Elliott Jp. Venous Autografts In Femoropopliteal Arterioplasty. Observations In The Treatment Of Occlusive Disease. Arch Surg. 1964 Jul;89:113-25.
46. Owens CD. Adaptive changes in autogenous vein grafts for arterial reconstruction: clinical implications. J Vasc Surg. 2010 Mar;51(3):736-46.
47. Lau GT, Ridley LJ, Bannon PG et al. Lumen loss in the first year in saphenous vein grafts is predominantly a result of negative remodeling of the whole vessel rather than a result of changes in wall thickness. Circulation. 2006 Jul 4;114(1 Suppl):I435-40.
48. Yazdani, S. K. *et al.* Pathology of drug-eluting versus bare-metal stents in saphenous vein bypass graft lesions. *JACC Cardiovasc. Interv.* **5**, 666–674 (2012).
49. de Vries MR, Niessen HW, Löwik CW, Hamming JF, Jukema JW, Quax PH. Plaque rupture complications in murine atherosclerotic vein grafts can be prevented by TIMP-1 overexpression. PLoS One. 2012;7(10):e47134.
50. de Vries MR, Wezel A, Schepers A et al. Complement factor C5a as mast cell activator mediates vascular remodeling in vein graft disease. Cardiovasc Res. 2013 Feb 1;97(2):311-20.
51. Ewing MM, de Vries MR, Nordzell M et al. Annexin A5 therapy attenuates vascular inflammation and remodeling and improves endothelial function in mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011 Jan;31(1):95-101.
52. <https://www.nature.com/articles/nrcardio.2016.76/figures/2>
53. Kaur A, Sharma S. Mammalian target of rapamycin (mTOR) as a potential therapeutic target in various diseases. Inflammopharmacology. 2017 Jun;25(3):293-312.
54. Liko D, Hall MN. mTOR in health and in sickness. J Mol Med (Berl). 2015 Oct;93(10):1061-73.
55. Sciarretta S, Forte M, Frati G, Sadoshima J. New Insights Into the Role of mTOR Signaling in the Cardiovascular System. Circ Res. 2018 Feb 2;122(3):489-505.
56. Chong ZZ, Shang YC, Maiese K. Cardiovascular disease and mTOR signaling. Trends Cardiovasc Med. 2011 Jul;21(5):151-5.
57. Albert V, Hall MN. mTOR signaling in cellular and organismal energetics. Curr Opin Cell Biol. 2015 Apr;33:55-66.

58. Ehninger D, Han S, Shilyansky C et al. Reversal of learning deficits in a Tsc2<sup>+/-</sup> mouse model of tuberous sclerosis. *Nat Med*. 2008 Aug;14(8):843-8.
59. Faivre S, Kroemer G, Raymond E. Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. *Nat Rev Drug Discov*. 2006 Aug;5(8):671-88.
60. Lieberthal W, Fuhro R, Andry CC et al. Rapamycin impairs recovery from acute renal failure: role of cell-cycle arrest and apoptosis of tubular cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2001 Oct;281(4):F693-706.
61. Sakaguchi M, Isono M, Isshiki K, Sugimoto T, Koya D, Kashiwagi A. Inhibition of mTOR signaling with rapamycin attenuates renal hypertrophy in the early diabetic mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006 Feb 3;340(1):296-301.
62. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00109-015-1326-7/figures/1>
63. Zhang D, Contu R, Latronico MV et al. MTORC1 regulates cardiac function and myocyte survival through 4E-BP1 inhibition in mice. *J Clin Invest*. 2010 Aug;120(8):2805-16.
64. Shende P, Plaisance I, Morandi C et al. Cardiac raptor ablation impairs adaptive hypertrophy, alters metabolic gene expression, and causes heart failure in mice. *Circulation*. 2011 Mar 15;123(10):1073-82.
65. Völkers M, Konstandin MH, Doroudgar S et al. Mechanistic target of rapamycin complex 2 protects the heart from ischemic damage. *Circulation*. 2013 Nov 5;128(19):2132-44.
66. Sciarretta S, Zhai P, Shao D et al. Rheb is a critical regulator of autophagy during myocardial ischemia: pathophysiological implications in obesity and metabolic syndrome. *Circulation*. 2012 Mar 6;125(9):1134-46.
- 67 - Buss SJ, Muenz S, Riffel JH, Malekar P, Hagenmueller M, Weiss CS, Bea F, Bekeredjian R, Schinke-Braun M, Izumo S, Katus HA, Hardt SE. Beneficial effects of Mammalian target of rapamycin inhibition on left ventricular remodeling after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Dec 15;54(25):2435-46.
68. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3384484/table/T1/?report=objectonly>
69. Reho JJ, Guo DF, Rahmouni K. Mechanistic Target of Rapamycin Complex 1 Signaling Modulates Vascular Endothelial Function Through Reactive Oxygen Species. *J Am Heart Assoc*. 2019 May 7;8(9):e010662.

70. Ribeiro MC, Peruchetti DB, Silva LS et al. LPS Induces mTORC1 and mTORC2 Activation During Monocyte Adhesion. *Front Mol Biosci*. 2018 Jul 18;5:67.
71. Mao B, Zhang Q, Ma L, Zhao DS, Zhao P, Yan P. Overview of Research into mTOR Inhibitors. *Molecules*. 2022 Aug 19;27(16):5295.
72. Costa MA, Simon DI. Molecular basis of restenosis and drug-eluting stents. *Circulation*. 2005 May 3;111(17):2257-73.
73. Poon M, Marx SO, Gallo R, Badimon JJ, Taubman MB, Marks AR. Rapamycin inhibits vascular smooth muscle cell migration. *J Clin Invest*. 1996 Nov 15;98(10):2277-83.
74. Schuler W, Sedrani R, Cottens S et al. SDZ RAD, a new rapamycin derivative: pharmacological properties in vitro and in vivo. *Transplantation*. 1997 Jul 15;64(1):36-42.
75. Giordano A, Romano A. Inhibition of human in-stent restenosis: a molecular view. *Curr Opin Pharmacol*. 2011 Aug;11(4):372-7.
76. Pagano, P. J.; Clark, J. K.; Cifuentes-Pagano, M. E.; Clark, S. M.; Callis, G. M.; Quinn, M. T., Localization of a constitutively active, phagocyte-like NADPH oxidase in rabbit aortic adventitia: enhancement by angiotensin II. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1997, 94, 14483-14488.
77. Bradford, M. M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 1976, 72, 248-254.
78. Welt FGP. CABG versus PCI - End of the Debate? *N Engl J Med*. 2022 Jan 13;386(2):185-187.
79. Ahmed I, Yandrapalli S. Internal Mammary Artery Bypass. 2023 Jul 30. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan—. PMID: 32809670.
80. Monahan TS, Owens CD. Risk factors for lower-extremity vein graft failure. *Semin Vasc Surg*. 2009 Dec;22(4):216-26.
81. Yanagawa B, Algarni KD, Singh SK et al. Clinical, biochemical, and genetic predictors of coronary artery bypass graft failure. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014 Aug;148(2):515-520.e2.

82. Efir JT, O'Neal WT, Gouge CA et al. Implications of Hemodialysis in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Grafting. *Int J Cardiovasc Res*. 2013 Mar 13;2(6):1000154.
83. Kon ZN, White C, Kwon MH et al. The role of preexisting pathology in the development of neointimal hyperplasia in coronary artery bypass grafts. *J Surg Res*. 2007 Oct;142(2):351-6.
84. Dashwood MR, Savage K, Dooley A, Shi-Wen X, Abraham DJ, Souza DS. Effect of vein graft harvesting on endothelial nitric oxide synthase and nitric oxide production. *Ann Thorac Surg*. 2005 Sep;80(3):939-44.
85. Aslan JE, Tormoen GW, Loren CP, Pang J, McCarty OJ. S6K1 and mTOR regulate Rac1-driven platelet activation and aggregation. *Blood*. 2011 Sep 15;118(11):3129-36.
86. Tang Z, Shi H, Chen C et al. Activation of Platelet mTORC2/Akt Pathway by Anti- $\beta$ 2GP1 Antibody Promotes Thrombosis in Antiphospholipid Syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2023 Oct;43(10):1818-1832.
87. Norman, G. (2010). Likert scales, levels of measurement and the "laws" of statistics. *Advances in Health Sciences Education*, 15 (5), 625-632.
88. Hunt CJ. Technical Considerations in the Freezing, Low-Temperature Storage and Thawing of Stem Cells for Cellular Therapies. *Transfus Med Hemother*. 2019 Jun;46(3):134-150.
89. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9413691/figure/molecules-27-05295-f003/>
90. Kocak Z, Temiz-Resitoglu M, Guden DS et al. Modulation of oxidative-nitrosative stress and inflammatory response by rapamycin in target and distant organs in rats exposed to hindlimb ischemia-reperfusion: the role of mammalian target of rapamycin. *Can J Physiol Pharmacol*. 2019 Dec;97(12):1193-1203.
91. Winkler B, Reineke D, Heinisch PP et al. Graft preservation solutions in cardiovascular surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2016 Aug;23(2):300-9.

## 8. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AGC</b>	: cAMP-bağımlı, cGMP-bağımlı ve Protein Kinaz C
<b>Akt</b>	: Protein Kinaz B
<b>BAP</b>	: Bilimsel Araştırma Projeleri
<b>BSV</b>	: Büyük Safen Ven
<b>DAMP</b>	: Hasarla İlişkili Moleküler Kalıplar
<b>DES</b>	: İlaç Salınımlı Stent
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>DOCA</b>	: Deoksikortikosteron Asetat
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik Asit
<b>EF</b>	: Ejeksiyon Fraksiyonu
<b>ELİSA</b>	: Enzim Bağlantılı İmmüno-sorbent Testi
<b>eNOS</b>	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
<b>ERK1/2</b>	: Hücre Dışı Sinyal Düzenlemeli Kinazlar
<b>FDA</b>	: Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
<b>FKBP</b>	: Takrolimus / FK506 bağlayıcı proteinler
<b>FRB</b>	: FKBP–rapamycin binding
<b>HEPES</b>	: 4-(2-hidroksietil)-1-piperazineetansulfonik asit
<b>HL</b>	: Hiperlipidemi
<b>HT</b>	: Hipertansiyon
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen Eozin
<b>ICAM-1</b>	: Hücre içi Adezyon Molekülü - 1
<b>IL1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin - 1 $\beta$
<b>İMA</b>	: İnternal Mammarian / Torasik Arter
<b>KABG</b>	: Koroner Arter Bypass Greft
<b>KSV</b>	: Küçük Safen Ven
<b>LAD</b>	: Sol Ön İnen Arter
<b>LKB1</b>	: Liver Kinaz B1
<b>MAPK</b>	: Mitogenle Aktive Olan Protein Kinaz
<b>MEÜ</b>	: Mersin Üniversitesi
<b>MMP</b>	: Matriks Metalloproteinaz
<b>MYD88</b>	: Miyeloid Farklılaşma Birincil Tepki 88
<b>mTOR</b>	: Rapamisin'in Memeli Hedefi

<b>mTORC1</b>	: mTOR Kompleks 1
<b>mTORC2</b>	: mTOR Kompleks 2
<b>NFκB</b>	: Nükleer Faktör Kappa B / Aktif B Hücrelerinin Nükleer Faktörü
	Kappa-Hafif Zincir Güçlendiricisi
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik Oksit Sentaz
<b>PECAM-1</b>	: Platelet Endotelial Adezyon Molekülü
<b>PIKK</b>	: Fosfatidilinositol 3-Kinazla İlişkili Kinazlar
<b>PGI<sub>2</sub></b>	: Prostaglandin
<b>PTCA</b>	: Perkütan Translüminal Koroner Anjioplasti
<b>PTEN</b>	: Fosfataz ve Tensin Homologu
<b>Raptor</b>	: mTOR'un Düzenleyici İlişkili Proteini / RPTOR
<b>Rheb</b>	: Beyinde Zenginleştirilmiş Ras Homoloğu
<b>Rictor</b>	: Rapamisinin Memeli Hedefinin Rapamisine Duyarsız Arkadaşı
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>SGK1</b>	: Serum / Glukokortikoid Düzenlemeli Kinaz 1
<b>SR-A</b>	: Çöpçü Reseptörü A
<b>SSA</b>	: Sığır Serum Albümini
<b>TIMP1</b>	: Metalloproteinazların doku inhibitörü
<b>TNFα</b>	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
<b>TLR</b>	: Toll Benzeri Reseptör
<b>TSC1</b>	: Tüberoz Skleroz Kompleksi 1 / Hamartin
<b>TSC2</b>	: Tüberoz Skleroz Kompleksi 2 / Tuberin
<b>VCAM</b>	: Vasküler Hücre Yapışma Proteini
<b>VSMC</b>	: Vasküler Düz Kas Hücresi

## 9. TABLOLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> mTOR'un kardiyovasküler sistemdeki düzenleyici rolleri.	28
<b>Tablo 2.</b> Hasta Tanımlayıcı İstatistikleri (n=44)	44
<b>Tablo 3.</b> Manipüle Edilmemiş Safen Ven ile Manipülasyondan Sonraki Safen Ven mTOR Protein Ölçüm Ortalamaları Arasında Fark Değerlendirmesi	45



## 10. ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Büyük Safen Ven ve Küçük Safen Ven Anatomisi	14
<b>Şekil 2.</b> Safen Ven Histolojisi	15
<b>Şekil 3.</b> Cerrahi damar grefti hazırlığı endotel tabakasına zarar verir. Birkaç saat içinde luminal yüzey fibrinden zengin katmanlarla kaplanır ve nötrofiller, monositler ve lenfositler dahil olmak üzere dolaşımdaki beyaz kan hücreleri fibrin katmanına ve intimaya yapışır ve sızar. Medyadaki düz kas hücreleri ve adventisyadaki fibroblastlar aktive olur ve intimaya doğru göç etmeye başlar, bu da intimal hiperplazi oluşumuna neden olur. Enflamatuar hücreler gibi damar duvarındaki hücreler tarafından salınan büyüme faktörleri ve sitokinler, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu artırır ve hücre dışı matriks birikimini indükleyerek intimal hiperplazinin daha da büyümesine neden olur. Aterojenik koşullar altında ve özellikle KABG cerrahisinden sonra damar duvarındaki makrofajlar lipitleri alıp köpük hücrelerine dönüşebilir. Ölen köpük hücreleri, apoptoz ve kolesterol birikimiyle nekrotik bir çekirdek oluşur. Damar greftlerindeki aterosklerotik süreç, çizimin üst kısmında gösterilmektedir.	22
<b>Şekil 4.</b> mTOR Sinyali Ve Hastalıklar: Mutasyona uğramış mTORC1 ve mTORC2 sinyal düğümleri. AKT'deki sarı daireler fosforilasyon olaylarını gösterir. Yeşil renkli düğümler, fonksiyon kaybı durumunda hastalığa yol açan proteinleri temsil ediyor. Her molekülün fonksiyon kaybıyla ilişkili sendromlar belirtilmiştir. PTEN ve LKB1'in fonksiyon kaybı diğer tümör türlerinin de ortaya çıkmasına neden olur. Mavi renkli düğümler, kanser hastalarında mutasyona uğramış veya çoğaltılmış proteinleri temsil eder.	26
<b>Şekil 5.</b> mTOR'un allosterik inhibitörlerinin yapıları ve bunların FKBP12 (mavi) ve FRB (kırmızı) ile bağlanma modunu gösteren gösterimler. R1–R4: rapamisin ve türevleri; R5: rapalog olmayan allosterik inhibitör.	30

## 11. RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1.** Açık Cerrahi Safen Ven Grefti Hazırlığı (solda) ve Endoskopik Safen Ven Grefti Hazırlığı 16
- Resim 2.** İşlem öncesi gruba ait (kontrol) safen vende lümen (L), endotel (ok), tunika medya (TM) ve tunika adventisya (TA). A) x40; B) x100; C) x200; D) x400, H&E 47
- Resim 3.** İşlem sonrası gruptaki (çalışma) safen vende lümen (L), içsi ve elonge endotel hücreleri (ok), endotel kaybı olan bölgeler (ok başı), tunika medya (TM) ve tunika adventisya (TA). A) x40; B) x100; C) x200; D) x400, H&E 48

