



УНИВЕРЗИТЕТ У НИШУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

др Александар Борислав Каменов

Утицај различитих врста раствора који се користе у припреми аутовенских графтова у коронарној хирургији на структурални интегритет ендотелних ћелија графта

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментор: проф. др Драган Милић

Ниш, 2024.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE

Dr. Aleksandar Borislav Kamenov

**The effect of storage solutions used in Coronary
Artery Bypass Grafting surgery on saphenous
venous graft endothelial cell integrity**

DOCTORAL DISSERTATION

Mentor: Prof. dr Dragan Milić

Niš, 2024.

Подаци о докторској дисертацији

Ментор:

Проф. др Драган Милић, ванредни професор, Универзитет у Нишу, Медицински Факултет у Нишу

Наслов:

Утицај различитих врста раствора који се користе у припреми аутовенских графтова у коронарној хирургији на структурални интегритет ендотелних ћелија графта.

Резиме:

У хистолошком и имунохистохемијском истраживању спроведеном на исечцима сафенских вена добијених од пацијената током процедуре хируршке ревакуларизације миокарда од 07.2021. до 09.2022. испитиван је утицај различитих врста раствора коришћених током препарације и складиштења сафенских венских графтова на очување интегритета ћелија ендотела. Сматра се да је очување интегритета и функције ендотела од кључног значаја за трајање и функцију сафенског венског графта те да је избор раствора од изузетног значаја за допринос што дужем трајању сафенских венских графтова и као крајњи циљ има смањивање клиничких последица дисфункције венских графтова.

Научна област:

Медицина

Научна дисциплина:

Хирургија

Кључне речи:

CD34, CABG, FFP, Bretschneider, дисфункција сафенског венског графта

УДК:

616.127-089:616.14(043.3)

CERIF

класификација:

В 600 Хирургија

Тип лиценце

Креативне заједнице:

Одабрани тип лиценце. Нпр: **CC BY-NC-ND**

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor:

Prof. dr. Dragan Milić, associate professor, University of Niš,
Medical faculty of Niš

Title:

The effect of storage solutions used in CABG surgery on saphenous venous graft endothelial cell integrity.

Abstract:

In a histological and immunohistochemical study conducted on segments of saphenous veins obtained from patients during myocardial revascularization procedures from July 2021 to September 2022, the influence of different types of solutions used during the preparation and storage of saphenous venous grafts on the preservation of endothelial cell integrity was investigated. Preserving the integrity and function of the endothelium is considered crucial for the longevity and function of saphenous venous grafts. The choice of solution is of paramount importance in contributing to the extended durability of saphenous venous grafts, with the ultimate goal of reducing clinical consequences of graft dysfunction.

Scientific Field:

Medical science

Scientific Discipline:

Surgery

Key Words:

CD34, CABG, FFP, Bretschneider, saphenous venous graft disease

UDC:

616.127-089:616.14(043.3)

CERIF Classification:

B 600 Surgery

Creative Commons License Type:

Selected License Type. For example: **CC BY-NC-ND**

Овај рад посвећен је
генерацијама из којих сам потекао,
мојој великој породици,
као и генерацијама које долазе

Захвалница

Проф. др Драгану Милићу, са Клинике за кардиоваскуларну хирургију, Клиничког Центра Ниш, покретачком духу, ментору и пријатељу, дугујем захвалност за пренета професионална знања, дугогодишњу стручну и научну сарадњу, као и за пружену подршку током израде ове докторске дисертације.

Проф. др Александру Петровићу чији су савети и несебична воља да се стручним дискусијама да подстрек истраживању и успешном завршетку овог доктората.

Проф. др Ивану Николићу, на изузетном професионалном узору, пријатељским и стручним саветима, као и на доступности дела ресурса пројекта Министарства науке технолошког развоја и иновација РС („Антиоксидативна заштита и потенцијали за диференцијацију и регенерацију мезенхималних матичних ћелија из различитих ткива током процеса старења“ (ЕВБ 175061 и МФ-Ниш 451-03-9/2021-14/200113), неопходних за извођење имунохистохемијског дела истраживања.

Проф. др Горану Раденковићу, шефу Катедре за хистологију и ембриологију Медицинског факултета у Нишу, захваљујем се на доступности за професионалну употребу дела ресурса лабораторије Катедре за хистологију и ембриологију, Медицинског факултета у Нишу, током израде ове докторске дисертације. Такође, професору Раденковићу дугујем захвалност на стрпљивом и пријатељском односу и увек правременом и правоваљаном усмерењу ка искуствено исправним и логичним решењима.

Медицинском факултету у Нишу, захваљујем се на финансирању истраживања, чији су резултати приказани у овој докторској дисертацији, кроз средства интерног пројекта МФ-Ниш: ИНТ-МФН - 38 „Анализа морфолошке дистрибуције молекуларних показатеља регенеративних потенцијала различитих диферона човека и експерименталних животиња“, (руководилац пројекта, проф. др Горан Раденковић, Катедра за хистологију и ембриологију, 2020-2023), неопходних за извођење хистотехнолошке обраде ткивних узорака великих сафенских вена до хистохемијски обојених трајних светлосномикроскопских препарата.

Проф. др Владимиру Петровићу са Катедре за хистологију и ембриологију Медицинског факултета у Нишу на пријатељски несебично издвојеном времену, труду и професионалној помоћи око извођења имунохистохемијског дела истраживања.

Госпођи Марини Ђорђевић, лабораторијском техничару Катедре за хистологију и ембриологију Медицинског факултета у Нишу, захваљујем се на несебичном пријатељском и професионалном ангажовању у извођењу различитих и бројних хистотехнолошких поступака припреме ткивних узорака великих сафенских вена за њихово изучавање на светлосним микроскопима.

Колегама и медицинском техничком особљу са Клинике за кардиоваскуларну хирургију Клиничког Центра у Нишу: Ненаду Пауновићу, Александру Вељковићу, Стефану Стојановићу, Ђорђу Миленковићу, Вуку Поповићу, Милошу Здравковићу, на колегијалној замени током обављања редовних дужности, као и пријатељском подстицају током израде доктората.

Оцу Бориславу и мајци Светлани, без чијег утицаја се ова идеја никада не би родила,

Супрузи Анђели, без чије несебичне подршке ова идеја никада не би била реализована.

Списак скраћеница, акронима и ознака

CABG – *Coronary artery bypass graft surgery* (Хируршка реваскуларизација миокарда)

FFP – Свеже замрзнута плазма (СЗП)

ХТК – *Bretschneider*-ов раствор, комерцијално име - *Custodiol*

TnI – Тропонин I

СК – креатин киназа

СКМВ – креатин киназа МБ

LIMA – унутрашња лева мамарна артерија

RIMA - унутрашња десна мамарна артерија

BIMA – обострана мамарна артерија

RGEA – десна гастроепиплоична артерија

RA – радијална артерија

REDO – поновна хируршка операција

SVG – сафенски венски графт

АО - аорта

LAD – лева предња десцендентна коронарна артерија

RCA – десна коронарна артерија

ОМ – тупа маргинална грана циркумфлексне артерије

СХ – циркумфлексна артерија

RVAD – механичка потпорна пумпа десног срца

LVAD – механичка потпорна пумпа левог срца

BIVAD – механичка потпорна пумпа левог и десног срца

ХБИ – хронична бубрежна инсуфицијенција

PCI – перкутана коронарна интервенција

POBA – балон ангиопластика (*Plain Old Ballon Angioplasty*)

FFR – (*Fractional Flow Reserve*) - фракциона резерва протока

SHH – (*Sonic Hedgehog*), ген који игра улогу у ембриогенези

VEGF – фактор раста васкуларног ендотела

EDRF – ендотел зависни фактор релаксације

HbA1c – гликолизирани хемоглобин

NO – азот оксид

NOS – синтетаза азотног оксида

ICAM – интрацелуларни адхезиони молекул
VCAM – васкуларни целуларни адхезиони молекул
PGI₂ – простагландин И2
TGF β – фактор раста тумора β
TFPI – инхибитор фактора ткивног пута коагулације
IL-6 – Интерлеукин 6
IL-8 – Интерлеукин 8
ROS – Слободни радикали (*Reactive Oxygen Species*)
SOD - супероксид димутаза
ox-LDL - оксидовани липопротеин ниске густине
ADP - аденозин дифосфат
PDE-III inhibitor - инхибитор цикличне аденозин монофосфатне диестеразе типа III
PSGL-1- Пе селектина гликопротеински лиганд
MMP - металопроотеиназа матрикса
TNF- α – фактор некрозе тумора алфа
IL-1 β – интерлеукин 1 бета
IntXor- подслој тунике интима сафенске вене
CirkXor – циркуларни подслој тунике медије сафенске вене
SpLonXor - лонгитудинални подслој тунике медије сафенске вене
Lum – лумен
Area – планарна површина морфометријске фракције
XE – хематоксилин -еозин

Садржај

_Тос150089257

УВОД.....	1
Епидемиологија исхемијске болести срца.....	2
Историјат коронарне хирургије.....	2
Хируршка ревакуларизација миокарда.....	7
Графтови у коронарној хирургији.....	14
Унутрашња торакална артерија.....	14
Радијална артерија.....	16
Сафенски венски графт.....	18
Грађа велике сафенске вене.....	21
Морфологија и физиологија великих сафенских вена.....	22
Биологија и ембриологија великих сафенских вена.....	22
ХИПОТЕЗА.....	26
ЦИЉЕВИ РАДА.....	28
МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	29
Венотомија и биопсирање великих сафенских вена.....	31
Хистотехнолошка обрада ткива и методе обележавања ткивних структура.....	32
Израчунавање изведених морфометријских параметара:.....	36
РЕЗУЛТАТИ.....	38
Статистичка анализа особина пацијената и њихових клиничких параметара.....	38
Светлосно-микроскопска анализа узорака великих сафенских вена хистохемијски обојених хематоксилин-еозином и модификованом моватовом пентахромском методом.....	48
Светлосно-микроскопска анализа имунохистохемијски обележених узорака великих сафенских вена на антиген CD34.....	58
Микро-морфометријска анализа узорака великих сафенских вена обележених на антиген CD34.....	63
Морфометријска анализа целовитог узорка великих сафенских вена имунохистохемијски обележених на CD34 (без поделе на групе према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење аутографтова).....	63
Морфометријска анализа узорака великих сафенских вена имунохистохемијски обележених на CD34 и подељених у групе према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење аутовенских графтова.....	69
Испитивање корелација између клиничких и морфометријских параметара.....	87
ДИСКУСИЈА.....	92
ЗАКЉУЧАК.....	152
ЛИТЕРАТУРА.....	155

Увод

„Le germe n'est rien, c'est le terrain qui est tout!“

Louis Pasteur

Дуготрајна патентност графта је примарни циљ хируршке реваскуларизације миокарда. Оклузија графта је комплексни мултифакторијални процес који задешава велики број венских графтова. Иако се интимална хиперплазија и мање стенозе графта релативно често уочавају у годинама након хирургије, главни фактори ране и касне оклузије остају нејасни.

Оклузија графтова у коронарној хирургији представља судбину великог броја кондуита. У овом раду ћемо извршити ревизију релевантних теза у научној заједници и направити преглед инциденце, биологије, физиологије, патофизиологије, потенцијалних терапијских приступа и клиничких последица овог добро познатог стања. Механичко оштећење, дисфункција ендотела, тромбоза, интимална хиперплазија, вазоспазам и оксидативни стрес су различити механизми који се повезују са оклузијом графта. Морфолошке и функционалне особине венског графта играју велику улогу у његовој функцији и дисфункцији, али и карактеристике циљне коронарне артерије, као што је степен стенозе, величина лумена, екстензивност атеросклеротских промена и постојање евентуалних претходних процедура. Све ове факторе треба узети у обзир приликом одређивања стратегије за реваскуларизацију.

Хируршка техника препарације графта, техника шивења анастомозе, врста раствора за интраоперативно складиштење графтова, температура раствора и притисак дилатације графта такође утичу на трајање графта. Системски фактори ризика, као што су године старости, пол, дијабетес мелитус тип 2, артеријска хипертензија, дислипидемија такође имају утицај на судбину венског графта.

Оклузија графта није увек праћена клиничким догађајем, зависи од узрока и механизма оклузије и места анастомозе. Интраоперативна верификација протока и постоперативна медикаментозна терапија у виду антиагрегационих и антилипидних

лекова, као и корекција хигијенско-дијететских фактора ризика, могу повољно утицати на инциденцу оклузије венских графтова.

Епидемиологија исхемијске болести срца

Атеросклеротска кардиоваскуларна болест је водећи узрок морталитета широм света. Глобално је у временском периоду између 1990-2010. године дошло до смањења морталитета уз важну напомену да постоји позитиван однос између интрахоспиталног морталитета и висине укупног годишњег дохотка (коришћена је бруто вредност дохотка по глави становника државе). одређен од стране светске банке. Земље се већим укупним дохотком су имале већи морталитет од земаља са нижим, а повезује са повишеним факторима ризика као што су повишене вредности БМИ (*Body Mass Index*), крвног притиска, ШУК и холестерола у крви. У ових 20 година деловало се подизањем свести о овим факторима ризика да се умањи њихов укупни утицај на морталитет у земљама са вишим укупним годишњим примањима, док се је у земљама са нижим примањима дошло до повећања морталитета због тренда пораста БМИ и вредности ШУК пацијената (1).

Историјат коронарне хирургије

Аортокоронарни бајпас (*CABG*) је једна од најчешће извођених оперативних захвата извођених у свету данас. Историјат и развојни пут ове процедуре може се пратити уназад скоро више од 100 година. Развоју коронарне хирургије су допринели како успеси, тако и неуспеси пионира кардиохирургије. Временски се може поделити на три велика развојна доба:

- Доба експеримената и првих клиничких резултата (пре 1960. године)
- Доба графтова и медицине засноване на доказима (1960-1990. године)
- Доба минимално инвазивне и хибридне хирургије (од 1990. године)

Корак пре директне реваскуларизације миокарда, 1956. године *Charles Bailey* је извео успешну ендартеректомију коронарних артерија код седморо пацијената. Међутим, главни проблем тадашњих хирурга је била визуелизација коронарних артерија, све до 30.10.1958. године када је *Mason Sones* решио тај проблем случајно убацивши контраст у десну коронарну артерију (*RCA – Right Coronary Artery*) младог пацијента са реуматском болешћу аортног залистка (2,3).

Пре него што су графтови почели рутински да се користе у коронарној хирургији, Шведски хирург *Ake Senning* успешно је увећао лумен главног стабла леве коронарне артерије користећи перикардни patch (4). Неколико месеци након тога на другој страни Атлантика, *Donald Effler* је на Кливленд клиници применио ову технику за лечењу остијалне стенозе обе коронарне артерије (3).

У време када се операцији срца прилазило уз велико оклевање, *Arthur M. Vineberg* развио је визионарску процедуру директне имплантације унутрашње торакалне артерије (*a. thoracica interna, internal mammary artery*) у миокард леве коморе ради лечења ангинозних болова. Постала је позната као Вајнбергова операција, имала је неког ефекта на умањење исхемије(5) али никада није широко прихваћена од стране хируршке заједнице. Њени физиолошки бенефити нису били доследни и у великој мери су зависили од пацијента до пацијента, све док 1958. новоизмишљена коронарна ангиографија од стране *Sones*-а и *Shirley*-а није показала да постоји реално повећање перфузије код исхемијске коронарне болести. 1968. године ја Кливленд клиника пријавила ангиографску процену 1100 имплантираних *IMA (Internal Mammary Artery)*; артерија је била патентна у 92% случаја, а комуникација *IMA*-коронарни крвни судови је била присутна у 54% случајева (6). Ова потврда је дошла прекасно, јер се у наредној декади директна ревакуларизација коронарних артерија (*Vineberg*-ова метода имплантира у миокард леве коморе) показала као ефикаснија метода ревакуларизације миокарда.

Прву успешну ревакуларизацију миокарда извео је *Robert Goetz* на медицинском колеџу *Albert Einstein* у Њујорку користећи *Rosenak* (танталум) прстенове (7). Преходно је овај концепт експериментално успешно изводио на псима, све док нису усавршили технику извођења анастомозе за 17 секунди. 02.05.1960. *Goetz* је водио тим хирурга који су анастомозирали десну унутрашњу торакалну артерију (*RITA*) са десном коронарном артеријом (*RCA*) користећи ову нараву. Пацијент је преминуо 13 месеци касније али је обдукција показала да је графт и даље био патентан.

Први пут је анастомозу руком ушио *David Sabiston* 04.04.1962. када је аутовенски графт (*SVG*) вене сафене магне анастомозирао са десном коронарном артеријом на *John Hopkins* Институту (8). Технички је то био *off-pump* короно-коронарни бајпас, међутим пацијент је три дана касније преминуо и *Sabiston* своје искуство није пријавио све до 1974. године.

Michael DeBakey и *Edward Garret* су 23.11.1964. у Хјустону урадили корона-коронарни бајпас на *LAD (Left Anterior Descending Artery)*, али га нису пријавили све до 1973. године док нису доказали проточност графта (8).

Ипак се често прва успешна руком сашивена анастомоза између крвних судова приписује руском хирургу Василију Колесов-у који је креирао *RITA-RCA (Right Internal Thoracic Artery-Right Coronary Artery)* анастомозу 25.02.1964. у *off-pump* техници. Пријавио је 12 успешних процедура 1967. године (9).

George Green је 1968. у болници *St. Luke* у Њујорку урадио прву *LIMA-LAD* анастомозу (10) која је касније постала златни стандард у коронарној хирургији.

Експериментисање у коронарној хирургији је довело до употребе аутовенског графта (*SVG - Saphenous Venous Graft*). Заслужним за опште признавање и популаризацију венског графта сматра се *Rene Favoloro*, хирург Аргентинског порекла који је радио на Кливленд клиници. Први бајпас је урадио маја 1976. године и то је био корона-коронарни бајпас на десној коронарној артерији (*RCA*) (11). Годину дана касније употреби је овај графт успешно код 150 пацијената, а до 1970. године је имао урађених преко 1000 случајева. Чак је у раним данима препознато да је то графт који је проблематичан. Патолошки налази су описивали интимално и медијално задебљање и тромбозу графта (12). Будуће студије су доказале хиперплазију интима и рану атеросклерозу графта у односу на артеријске графтове (13).

Alain Carpentier је рано препознао супериорност артеријских графтова у односу на аутовенски графт и сматрао да та супериорност важи за све артеријске графтове. Први је користио радијалну артерију (*RA*) за аортокоронарни бајпас 1971. године (14). Међутим, прва искуства нису била позитивна, обзиром да је радијална артерија мускуларног типа често је улазила у спазам који је решаван механичком дилатацијом, што је имало последица по ендотел. Графт је показивао значајну интималну хиперплазију и често је рано отказивао (15). Коришћење радијалне артерије као графта доживело је препород када је као протокол уведена фармаколошка терапија уместо механичке дилатације уз промену хируршке технике у такозвану *no-touch* хируршку технику. *Christopher Acar* је кроз унапређено разумевање физиологије графта и протекције ендотела успео да проходност *RA* доведе до скоро 100% (16).

Још један артеријски графт је и *RGEA (Right Gastroepiploic Artery)*, артерија која се одваја иза желудачног пилоруса као грана гастродуоденалне артерије и иде паралелно

са великом кривином желуца. Ова артерија може да се користи за in-situ бајпас на десној коронарној артерији (*RCA*), што је први пут 20.02.1987. *Abdullah Attum*, хирург из *Louisville*-а и урадио. Провукао је испрепарисану артерију кроз отвор на мембранозном делу дијафрагме у перикардну кесу и секвенцијално је начинио анастомозе са *PD* (*Posterior Descending*) граном *RCA* и *PL* (*Posterior Lateralis*) граном циркумфлексне артерије (*CX*) (17). Предност коришћења овог графта је у томе што се, уз коришћење *LIMA* графта (*Left Internal Thoracic Artery*) и евентуално коришћење *RIMA* графта (*Right Internal Thoracic Artery*) може постићи комплетна артеријска реваскуларизација чак и најзахтевнијих пацијената без потребе за клемовањем асцендентне аорте (18). Предност коришћења овог графта је у томе што се, уз коришћење *LIMA* графта (*Left Internal Thoracic Artery*) и евентуално коришћење *RIMA* графта (*Right Internal Thoracic Artery*) може постићи комплетна артеријска реваскуларизација чак и најзахтевнијих пацијената без потребе за клемовањем асцендентне аорте (19).

По подацима из литературе се види да веома мали број хирурга користи овај графт, вероватно због потребе за отварањем још једне шупљине (абдомена), чиме се повећава ризик од контаминације.

Концепт артеријске реваскуларизације је резултат запаженог бенефита код употребе једне *IMA* (*Internal Thoracic Artery*) у поређењу са коришћењем искључиво венских графтова. Логично је да, уколико постоји бенефит код употребе једног артеријског графта, ће тај бенефит бити још већи уколико се употребљава још један артеријски графт. Рад са Кливленд клинике деведесетих година је подржао ову хипотезу, јер је коришћење *BIMA* (*Bilateral IMA*) графтова било повезано са још већим преживљавањем и смањеном потребом за *REDO* операцијом у поређењу са само једним *IMA* графтом (20).

Разлика у кривуљама преживљавања која је иницијално пријављена након 10 година се наставља и у периоду праћења који иде и до 20 година (21). Ова супериорност *BIMA* графта се одржава без обзира на то да ли је графт скелетонизован или педиклован, да ли су пацијенти дијабетичари или не, и међу пацијентима оба пола. Оба графта (како *LIMA* тако и *BIMA*) имају сличну патентност и повољан ефекат на преживљавање без обзира на конфигурацију графтова. (*Y, T, in situ...*) (22) иако *RIMA* анастомозирана на *RCA* са мањим степеном стенозе може имати смањену патентност.

Десетогодишњи резултати *ART (Total Arterial Revascularization)* студије су недвосмислено показали да не постоји разлика у морталитету било ког узрока (*BIMA* 20.3% према *SIMA* 21.2%), композитном крајњем исходу смрти, инфаркта или *CVI* (Цереброваскуларни Инзулт) (*BIMA* 24.9% према *SIMA* 27.3%) или у потреби за понављањем реваскуларизационе процедуре код *BIMA (Bilateral Internal Mammary Artery)* у односу на *SIMA (Single Internal Mammary Artery)* (*BIMA* 10.3% према *SIMA* 10.0%) (23).

Минимално инвазивна коронарна хирургија је настала на темељу торакотомије у циљу избегавања тоталне стернотомије. Деведесетих година је настала минимално инвазивна директна коронарна хирургија (*MIDCAB*). *Antonio Calafiore* је пријавио серију пацијената са изолованом лезијом на *LAD* (24) Ускоро је ова техника кренула путем торакоскопије, а потом наравно ка роботици. Ускоро су *AESOP (Automated Surgical System for Optical Positioning)* и *Zeus Robotic Surgical System* еволуирали у *da Vinci Surgical System* на коме је урађен први тотално ендоскопски бајпас на коронарним артеријама (*TECAB*), а извео га је *Didier Loulmet* са својим тимом (25) у Француској 1998.године. Могуће је комбиновати две технике, како на *CPB (Cardio Pulmonal Bypass)* тако и у *off-pump* техници (26,27)

Уз развој роботике јавља се потреба за анастомотским уређајима, како за дисталне тако и за проксималне анастомозе, у виду разних стаплера који омогућавају сачињавање униформних анастомоза без угрожавања патентности графта (28). Такође је само харвестовање графтова доживело еволуцију ка ендоскопским сетовима за једнократну употребу који стандардизују процедуре харвестовања *SVG (Saphenous Venous Graft)* и *RA (Radial Artery)*. Квалитет графтова је сличан квалитету графтова добијених итвореном методом уз одговарајући тренинг (29).

CABG остаје златни стандард за лечење коронарне болести, нарочито вишесудовне и болести главног стабла. Неколико студија (*ASCERT, FREEDOM, SYNTAX*) су показала супериорно преживљавање са *CABG* у односу на *PCI* код ове групе пацијената (30). Ова предност се највероватније стиче *LIMA-LAD* бајпасом, обзиром да више од три четвртине, а потенцијално и сва крв која снабдева велу комору долази кроз главно стабло (31).

Хируршка реваскуларизација миокарда

Најчешћи узрок коронарне болести су депозити од масноћа и калцијума који изазивају се налазе у коронарним артеријама. Ови депозити које називамо плаковима сужавају лумен коронарних крвних судова, који доводе артеријску крв до миокарда. Ова оксигенизована крв снабдева кардиомиоците кисеоником и енергетским молекулима не би ли срчана функција била обезбеђена. Постепеним сужењем коронарних артерија у времену долази до развоја исхемијске коронарне болести услед смањеног протока крви. Први симптоми су обично болови у грудима који могу да ирадирају у леву руку, врат или трбух и ово стање се назива ангина пекторис. Ангина пекторис може бити стабилна, а сматра се таквом када се фреквенца, трајање и тежина епизода не мења. У тежим случајевима може доћи до настанка инфаркта миокарда, са већом или мањом захваћеном површном миокарда, поремећаја срчаног ритма, срчане инсуфицијенције или чак изненадне срчане смрти.

Хируршка реваскуларизација миокарда је процедура у којој се користе венски кондуити (обично сафенска вена) или артеријски кондуити (*LIMA*, *RIMA*, *RA*...) не би ли се довела додатна количина крви до коронарног крвног суда дистално од места лезије (плака) и на тај начин уклонили симптоми пекторалне ангине, смањио ризик од будућег инфаркта миокарда и срчане инсуфицијенције услед дуготрајне исхемијске болести и продужио живот ових болесника.

Коначна одлука о начину лечења ових болесника зависи од неколико различитих фактора, укључујући бенефит и ризик од самог оперативног захвата, тежину коронарне болести, стање срчаног мишића, али и удружене хроничне болести болести, од којих неке могу да допринесу тежини коронарне болести.

Постоје три модалитета лечења коронарне болести, при чему један примењени модалитет лечења не искључује нужно друга два. Ови модалитети су медикаментозна терапија, перкутана интервентна кардиологија (*PCI*) и хируршка реваскуларизација миокарда. Сви болесници који се лече од ангине пекторис буду третирани медикаментозном терапијом. Након урађеног теста оптерећења, под условом да резултат теста буде позитиван на исхемију миокарда, болеснику се препоручује селективна ангиографија коронарних крвних судова (коронарографија) или *МСЦТ* коронарних артерија као мање инвазивна метода. У зависности од налаза предлаже се још један, или комбинација друга два модалитета лечења.

Уз помоћ *PCI* методе се постојеће лезије отварају *POBA* (*Plain Old Baloon Angioplasty*) методом или пласирањем коронарних стентова одговарајућег лумена и дужине уз помоћ флексибилних катетера којима се ови стентови испоручују на одговарајуће место на коронарном крвном суду. Овим начином лечења се третира директно место лезије које сужава коронарни крвни суд тако што се лезија дилатира и одржава дилатираном уз помоћ стента. Уколико је анатомија одговарајућа препоручује се *PCI* уз медикаментозну терапију (антиагрегациона терапија), без које не би било могуће оставити страном тело у циркулацији и очекивати да неће доћи до компромитовања протока кроз третирану крвни суд.

Хируршка реваскуларизација миокарда је још један од интервентних модалитета лечења. Уколико се након дијагностике покаже да анатомији не одговарају само претходна два модалитета лечења, болеснику се препоручује елективна или емергентна хируршка реваскуларизација миокарда, у зависности од степена захваћености коронарних артерија. Пацијенти са стабилном ангином пекторис могу бити подвргнути хируршкој реваскуларизацији миокарда уколико су њихове тегобе претешке и не могу се купирати лековима нити *PCI* методом. Болесници са екстензивном коронарном болешћу, укључујући оне са сужењем главног стабла, вишесудовном коронарном болешћу и ослабљеном функцијом миокарда имају бенефит након хируршке реваскуларизације миокарда у виду продуженог животног века у односу на болеснике који буду лечени само медикаментозном терапијом или комбинацијом медикаментозне терапије и *PCI*. Код некох пацијената са вишесудовном коронарном болешћу може бити препоручена хибридна процедура, тј. комбинација хируршке реваскуларизације и *PCI* ради постизања оптималног резултата (32).

Уколико се говоримо о нестабилној ангини, тј. тегобама које се јављају учесталије, при мањем напору или при мировању, са епизодама које дуже трају и буду карактерисане већим степеном бола.

Након инфаркта миокарда, за време нестабилне ангине или за време акутног догађаја, *PCI* метода има висок проценат успешности и представља методу избора у овим околностима. Болесници који имају компликације акутног инфаркта миокарда као што су регургитација митралног залистка, кардиогени шок који захтева механичку потпору циркулације или коронарну анатомију која које није изводљива *PCI* метода могу бити подвргнути хируршкој реваскуларизацији миокарда (33).

При хируршкој реваскуларизацији миокарда, оштром дисекцијом се површна вена (*vena saphena magna*) са доњих екстремитета испрепарише и бочне гране подвежу уз помоћ лигатура или металних клипсева једном од хируршких техника - традиционална отворена техника, *no touch* техника и ендоваскуларна техника. Исто тако се истовремено једна или више артерија (*LIMA, RIMA, RA...*) испрепаришу уз помоћ електрокаутера или ултразвучног скалпела и бочне гране подвежу лигатурама или металним клипсевима. Након тога се изврши креација дисталних анастомоза између сегмената коронарних артерија дистално од места лезије и артеријског или венског графта. Након тога се врши креација проксималних анастомоза између асцендентне аорте и проксималног дела графтова. Уколико постоји велика разлика између дебљине зида артеријских крвних судова и асцендентне аорте може се извршити креација другачијег типа анастомозе (*T-L*) између артеријског и венског графта. Често се користи већи број графтова, просек је 3.1 по болеснику.

Унутрашња торакална артерија (*IMA*) се налази са леве и десне стране грудне кости. За разлику од венског графта или радијалне артерије, оне се не уклањају у потпуности из свог лежишта. Ови графтови остају повезани за оригинално исходиште у свом проксималном анатомском делу док је други део повезан за коронарну артерију. Златни стандард у коронарној хирургији је анастомоза између *LIMA (Left Internal Mammary Artery)* и *LAD (Left Anterior Descending Artery)*, која је најбитнија коронарна артерија и знатно побољшава исход и дуготрајност хируршке реваскуларизације миокарда. Уопштено, артеријски графтови ретко када стенозирају и генерално су дуготрајнији од венских графтова, болесници са више артеријских графтова имају боље преживљавање након хируршке реваскуларизације миокарда, мањи степен реоперација, поновљених инфаркта миокарда и мање рекурентних ангинозних тегоба када се пореде са венским графтовима.

Радијална артерија се добија оштром дисекцијом из унутрашње регије подлактице, обично са недоминантне руке, након извођења одговарајућих испитивања. Трајање ове врсте графтова је такође добро и скоро једнако трајању унутрашњој торакалној артерији. Обично постоје само минималне промене у функцији руке након препарације ове артерије које се манифестују у виду трњења и пецкања, али је промена моторне функције руке изузетно ретка компликација.

Препарација велике сафенске вене се врши са унутрашњег дела потколенице и натколенице. Упркос својим недостацима представља један од најкоришћенијих

графтова у кардихирургији данас због своје приступачности, расположивости и лакоће манипулације. Постоји више хируршких техника препарације, као и више различитих раствора за складиштење током хируршке реваскуларизације миокарда, о чему се касније у тексту опширније дискутује. Најчешће коришћене технике су традиционална отворена техника, но тоуцх техника и ендоскопска техника препарације. Начин опхођења са венским графтом одређује његово трајање у времену, као и потенцијалне могуће компликације са коронарним крвним судовима, као и локално на месту оштре препарације графтова. Лош третман овог графта, као и претходних наведених доводи до потреба за понављањем *PCI* и *CABG* процедура, али и смањује дуготрајност и успешност самог оперативног захвата. Стеноза венског графта услед промена сличних оним код коронарних артерија представља Ахилову пету овог графта. Ове стенозе се развијају код отприлике 50% болесника код којих је коришћен овај тип графтова. Неке стенозе се развијају већ након месец дана од операције, али је уобичајеније да се оваква патолошка промена деси након 2-7 година. Велики број фактора може бити предиспонирајући за болест сафенског венског графта уколико се не држе под контролом, укључујући редовну физичку активност, пушење, хипертензију, дислипидемију и дијабетес мелитус (34).

Сам оперативни захват се изводи у упштој анестезији, и његово трајање је стандардизовано на 5 сати и 50 минута са све уводом у *OETA* анестезију. Најчешћи приступ срцу је медијална стернотомија. Највећи број хируршких реваскуларизација се изводи уз помоћ машине за екстракорпоралну циркулацију која омогућава перфузију организма оксигенисаном крвљу док је срце плегично, заустављено у дијастоли уз помоћ кардиоплегичног раствора, а плућна циркулација прекинута. Проксимални крај графтова се зашије за асцендентну аорте, док се дистална анастомоза креира на одговарајућем месту дистално од стенозантне лезије коронарног крвног суда.

Постоји неколико другачијих приступа хируршкој реваскуларизацији миокарда као што су *off-pump* хирургија (*OPCAB*) приликом чијег извођења се не користи машина за екстракорпоралну циркулацију, минимално инвазивна хирургија (*MIDCAB*), робот хирургија уз употребу посебно дизајнираних конзола. Битно је напоменути да једна техника не искључује остале, може се урадити *off-pump* хирургија уз помоћ минимално инвазивног приступа користећи роботске инструменте. Циљ употребе ових новијих метода јесте скраћивање периода опоравка и хоспитализације, као и умањење броја компликација са зарастањем грудне кости.

Постоје бројни здравствени фактори који доприносе настанку компликација приликом хируршке ревакуларизације миокарда као што су хронична обољења (ХБИ, хроничне респираторне болести, цереброваскуларне болести итд.), одмакле године, гојазност, лоше регулисани дијабетес и артеријска хипертензија и крхкост болесника. Последњи параметар представља меру општег здравственог стања болесника. Болесници са високим збирним резултатом на скали крхкости имају повишен оперативни ризик и бољи исход са нехируршким модалитетом лечења (34,35).

Непосредно након хируршког захвата болесник проводи неколико дана у јединици интензивне неге у зависности од протокола установе. Користи се неколико система за праћење срчаног ритма, крвног притиска, температуре, дисања, диурезе, лабораторијских и запаљењских параметара. Степен мониторинга се полако смањује како време од операције пролази и болесник се опоравља. Пацијент бива екстубиран оног тренутка када буде процењено од стране анертезиолога да је број и квалитет респирација одговарајући. Надокнада течности се врши по процени ординирајућег лекара. Већина болесника се опорави довољно за кућно лечење након 4-5 дана, али за потпуни опоравак и прави бенефит хируршке ревакуларизације миокарда потребни су месеци.

Иако нису честе, постоји велики број компликација које се могу јавити након хируршке ревакуларизације миокарда. Значајне компликације су крварење које захтева ревизију у операционој сали, акутни инфаркт миокарда, срчана инсуфицијенција (*Low Cardiac Output Syndrome*), аритмије, шлог, промене когнитивне функције, респираторне компликације, инфекција ране, бубрежна инсуфицијенција и смрт. Постоперативне компликације могу бити узроковане привременом артефицијалном циркулацијом која није физиолошка услед употребе машине за екстракорпоралну циркулацију.

Два до четири процента (2-4%) болесника имају електрокардиографски или ензимски доказ акутног инфаркта миокарда након хируршке ревакуларизације миокарда. Овакав догађај је чешћи код болесника са повећаним оперативним ризиком. Болесници са високим ризиком су они који се подвргавају поновљеној или ургентној ревакуларизацији, болесници који су у кардиогеном шоку или захтевају механичку потпору циркулације, као и болесници који захтевају хирургију валвуларне болести уз хируршку ревакуларизацију миокарда. Генерално су постоперативни инфаркти миокарда мале до умерене захваћености масе миокарда (36).

Постоперативна срчана инсуфицијенција (*Low Cardiac Output*) се јавља нарочито често код болесника са оштећеном срчаном функцијом. Ово стање је често привремено

и може да одреагује адекватно на надокнаду волумена и примену инотропних лекова ради поправљања срчане функције. Од додатних терапијских могућности на располагању стоје разни облици привремене или трајне механичке потпоре циркулацији (интраортна балон пумпа, *LVAD*, *RVAD*, *BIVAD*) (37).

Тахиаритмије се могу јавити након хируршке реваскуларизације миокарда. Атријална фибрилација представља абнормални срчани ритам који се јавља до 40% пацијената након хируршке реваскуларизације миокарда, али може бити регулисана медикаментозно. Овај поремечај ритма може утицати на стварање коагулума у срчаним шупљинама. Уколико дође до дислоцирања коагулума из свог лежишта долази до емболизације. Уколико емболизије у цереброваскуларно корито долази до инфаркта мозданог ткива резултујући клиничком сликом шлога. Атријална фибрилација је обично привремена, уколико перзистира треба се третирати као хронична (38).

Вентрикуларна тахикардија или вентрикуларна фибрилација се јавља код око 2-3% болесника, обично унутар прва 4 дана од операције. Постоперативне брадиаритмије се јављају код 0.8-4% болесника. Перикардитис удружен са перикардним изливом може изазвати нелагодност и угрозити пуњење срчаних шупљина, првенствено десну преткомору. Уколико је излив велики може се пунктирати или третирати медикаментозно уколико нема простора за његову безбедну пункцију. Око 30% болесника захтева трансфузију орпаних еритроцита након хируршке реваскуларизације миокарда. Они са обимнијим крварењем које тражи ревизију хемостазе често примају већи број трансфузата и генерално више времена проводе у јединици интензивног лечења. Само око 2% пацијената буде ревидирано ради заустављања крварења. Употреба неких лекова повећава ризик од интраоперативног и постоперативног крварења, као што су цлопидогрел, прасугрел, тиагрелор, варфарин, дабигатран итд. и њихова употреба се прекида неколико дана пре извођења хируршког захвата (39). Неуролошке компликације као што су шлог, постоперативни делиријум, краткотрајне и дуготрајне когнитивне промене и депресија. Инциденца неуролошких промена код болесника након хируршке реваскуларизације миокарда је 2-4%, чешће код старијих болесника и болесника жеског пола (40). Инфекција хируршких рана се обично јавља код 1-5% болесника. Може се јавити код рана на грудном кошу и инфекције ране на овој локализацији се јављају код мањег броја болесника (1%). Обично се развија 7-9 дана након операције. Преципитирајући фактори су гојазност, дијабетес мелитус и коришћење обе унутрашње торакалне артерије. Посебно су угрожене жене са историјом

карцинома дојке, вероватно због последица зрачне терапија. Компликације у виду инфекције рана на након венектомије се јављају код већег броја пацијената (око 5%). Најчешће се јављају у виду дерматитиса (инфламација коже), целуцитиса (бактеријска инфекција коже), оштећења нерава и улцерација услед некрозе коже. Већина ових рана је мањег обима и не захтева хируршку обраду (41). Бубрежна инсуфицијенција благог степена се јавља код 5-10% болесника који бивају подвргнути хируршкој реваскуларизацији миокарда. Врло ретко је неопходна привремена хемодијализа услед акутне бубрежне инсуфицијенције, уколико овај вид лечења буде неопходан долази до драстичног скока морталитета (42).

Друге компликације су:

Плеуралне ефузије представљају колекције течности унутар плеуралног простора које окружују плућа. Врло су уобичајене након хируршке реваскуларизације миокарда и јављају се, у мањем или већем обиму, код чак 90% болесника. Обично могу да се третирају конзервативно, а уколико је неопходно могу да буду евакуисане пункцијом или дренажом (43). Оштећење френичног нерва који контролише дијафрагму се јавља код мање од 1% болесника након хируршке реваскуларизације миокарда. Оштећење овог нерва може да изазове његову парезу или чак парализу. Већина пацијената се у потпуности опорави у току прве године постоперативно (44). Оштећење интеркосталних нерава може настати током препарације унутрашње торакалне артерије. Симптоми су утрнулост, осетљивост, печење или нелагодност у пределу грудне кости или антеролатералног зида грудног коша. Ови симптоми обично трају око 4 месеца. Аортна дисекција је стање код кога долази до раздвајања слојева ткива аорте услед постојања улазне лезије на унутрашњем зиду аорте. Ово није честа компликација након хируршке реваскуларизације миокарда и преципитирајући фактори су повишен крвни притисак, поремећаји везивног ткива као што су Марфанов синдром, *Ehlers-Danlos* синдром, *Loeys-Dietz* синдром и други. Тромбоцитопенија може да буде узрокована хепарином који се даје за време хируршке реваскуларизације миокарда ради спречавања коагулације крви за време операције. У неким случајевима хепарин може да изазове привремени пад броја тромбоцита у крви (тромбоцитопенија), што може да утиче негативно на коагулациони статус и помери равнотежу у правцу повећања ризика од крварења (45). Као што је претходно речено, болесници са симптоматском ангином који буду подвргнути хируршкој реваскуларизацији миокарда имају велико побољшање преживљавања и квалитета живота. Постоји више фактора који утичу на дуготрајни исход хируршке

реваскуларизације миокарда, један од ових фактора је колико дуго графтови остају проходни у времену. Уколико дође до стенозе или оклузије графта може бити неопходно пласирање стентова уколико се процени да је неопходно. Избор графта такође утиче на евентуалну потребу реоперације.

Ангина након хируршке реваскуларизације је одсутна код око 95% оперисаних због сужења коронарних артерија одмах након извођења хируршког захвата. Око 85-90% пацијената остаје без ангинозних симптома једну до три године постоперативно, а око 75% пацијената остаје без симптома 5 година након хируршке реваскуларизације миокарда (46).

Разлози поновних ангинозних епизода су:

- Сужење графтова коришћених за реваскуларизацију
- Прогресија болести реваскуларизованих и нерескуларизованих крвних судова

Рекурентна ангина се ређе јавља када се за реваскуларизацију користе артеријски графтови у поређењу са венским графтовима. До десете године постоперативно, 90% свих артеријских графтова је проходно. За разлику од ове врсте графтова, око половине венских графтова је стенозирано или оклудирано 10 година након извођења хируршке реваскуларизације миокарда, а након 15 година скоро 85% венских графтова буде стенозирано или оклудирано. Ови каснији догађаји, који се често повезују са поновљеном симптоматологијом, обично захтевају поновну реваскуларизацију, и најчешће избор падне на *PCI* процедуру, док се ређе одлучујемо на поновну хируршку реваскуларизацију миокарда пошто је оперативни ризик увек већи за поновљену процедуру него што је то случај за иницијалну.

Графтови у коронарној хирургији

Унутрашња торакална артерија

Унутрашња торакална артерија је први пут искоришћена као графт од стране *Vineberg*-а 1946. године методом интрамускуларне имплантације у склопу индиректне реваскуларизације миокарда (47). Тренутно се сматра златним стандардом хируршке реваскуларизације миокарда и као графт је препознат од стране кардиохирурга као

нејефективнији и поузданији кондуит због своје одличне проточности, мање инциденце нежељених ефеката и повећаног преживљавања за пацијента (48). Већа проточност овог кондуита се приписује морфолошким карактеристикама зида, јер га његова хистолошка структура чини релативно ослобођеним од атеросклерозе и интималне хиперплазије (49). Унутрашња торакална артерија може бити коришћена обострано како ин ситу, тако и као слободни графт, иако се левострана артерија користи много ћешће због своје локације у односу на *LAD (Left Anterior Descending artery)* што омогућава лакшу креацију дисталне анастомозе и коришћење леве унутрашње торакалне артерије за реваскуларизацију *LAD* остаје без премца у хируршкој реваскуларизацији миокарда (47). Може бити препарисана различитим хируршким техникама, за отворену хирургију те технике су педиклована (Слика 2.) и техника скелетонизације. Десна унутрашња торакална артерија се може користити за реваскуларизацију грана циркумфлексне артерије, међутим обично се користи за реваскуларизацију *RCA (Right Coronary Artery)* или њених грана (*PD* или *PL*) (50). Морфолошка истраживања кажу да унутрашња торакална артерија није униформна у својој грађи целим својим током, па је на свом исходишту и у свом завршном делу, неколико *cm* пре рачвања на своје терминалне гране *a. musculophrenica* и *a. epigastrica superior*, миускуларног типа и склона спазму, док је у свом централном делу хистолошке грађе артерије еластичног типа што вероватно један од главних фактора њених позитивних карактеристика (51). Импликације ових морфолошких разлика се потенцијално виде у разлици у резултатима проходности графтова, при том треба рећи да је су разлике у проточности различитих артеријских графтова вероватно мултифакторијалне и не реба их приписивати једном фактору (52).

Дужина овог кондуита је од 14-20 *cm*, а дијаметар лумена варира проксималног дела варира од 2.12-2.75 *mm* и од 1.03-1.75 *mm* у дисталном сегменту (53). Компаративне студије леве и десне унутрашње торакалне артерије су показале занемарљиву разлику у дијаметру две артерије у корист леве, док су дијаметри неспецифичног сегмента зида обе артерије око 350 μm (54).

Количина еластичних влакана тунике медије варира дуж тока унутрашње торакалне артерије. Медијални сегмент садржи највећу количину еластичних влакана са девет ламинам проксимални део има 6 ламина, а дистални само три ламине еластичних влакана. Једна од компаративних студија је показала да постоји значајна разлика у морфолошкој структури леве и десне торакалне артерије у корист леве што се тиче количине еластичних влакана (55).

Унутрашња торакална артерија је хистолошки артерија еластичног типа што може да објасни њено изврсно трајање у времену, јер се сматра да еластичност кондуита омогућава одржавање његове пермеабилности на дуге стазе (56). Интимални слој је танак, а туница медиа је ограничена добро дефинисаним зидом унутрашње еластичне ламине, туница медиа има два подслоја, унутрашњи и спољашњи. Унутрашњи слој је мускуларан, састављен углавном од глаткомишићних ћелија са пар еластичних влакана која нису јасно формирана. Екстерни слој је еластичан, састављен углавном од добро дефинисаних еластичних влакана са пар глаткомишићних ћелија. Компактна структура унутрашње еластичне ламине представља могуће објашњење ниске инциденце развијања интималне хиперплазије (51).

Проточност унутрашње торакалне артерије је супериорна у односу на све остале кондуите коришћење у коронарној хирургији. Лева унутрашња торакална артерија када се анастомозира са *LAD (Left Anterior Descending artery)* има пролазност и до 99% након 5 година, 97% након 10 година, 90-95% након 15 година и до 90% након 20 година. Када се анастомозира са гранамa циркумфлексне артерије проточност графта је мало слабија, након 5 година 97%, након 8 92%, након 10 година 89% и након 15 91%. Када се анастомозира са *RCA (Right Coronary Artery)* проточност у времену опада на 84% након 15 година (50). Десна унутрашња торакална артерија има проточност од 80-90% након 10 година од када је анастомозирана са *RCA* (57).

Радијална артерија

Радијална артерија је први пут употребљена као кондуит у коронарној хирургији од стране Карпентијеа 1973. године (50), и тренутно се сматра другим графтом избора, одмах након унутрашње торакалне артерије. Последњих година је ова артерија стекла популарност као графт у коронарној хирургији због својих многобројних морфолошких и хируршких предности у односу на друге графтове (58). Особине које је чине свестраним графтом су њена довољна дужина за сваку коронарну артерију, као и могућност коришћења као секвенцијални графт, дебљина зида која је чини погодном за манипулацију и креирање анастомоза, дијаметар лумена који је компарабилан са дијаметром лумена коронарних артерија (58), њена прилагодљивост повишеном артеријском притиску, њена хируршка препарација је безбедна и репродуцибилна а проточност одлична (59). Са друге стране, радијална артерија има и своје недостатке, један од битних последица дебљине њене тунице медиа јесте њена склоност уласка у

спазам рано постоперативно на шта се може утицати фармаколошки (58,60). Најшире прихваћен став јесте да је радијална артерија идеална за ревакуларизацију грана циркумфлексе артерије, где ниједна од унутрашњих торакалних артерија не може стићи ин ситу (50). Такође се обично користи за ревакуларизацију десне коронарне артерије и њена употреба код креирања ових анастомоза је повезана са задовољавајућим клиничким и ангиографским резултатима (61). Ређе се користи за ревакуларизацију ЛАД и дијагоналних артерија (50).

Локалне компликације на месту препарисања су ретке када се уради адекватна преоперативна припрема и испитивања. Сензорни неуролошки поремећаји су ретки, а симптоматологија која отежава нормално функционисање шаке је присутна код мање од 10% пацијената и обично нестаје након неколико дана до неколико недеља (50). Након искоришћавања радијалне артерије као графта, долази до њеног функционалног и морфолошког ремоделовања у виду повећања луминалног дијаметра, смањења дебљине мускуларног слоја уз трансформацију артерије из чисто мускуларног у артерију комбинованог еластично-мускуларног типа уз иницијални губитак реактивности. Ове промене је чине још бољим кондуитом за коронарну хирургију. Главни механизам оклузије овог графта су спазам или хиперплазија (58,62).

Резултати разних морфолошких испитивања радијалне артерије су показали да је њена просечна дужина 20-22.6 *cm*. Испитивања дијаметра лумена су показала просечну вредност од 2-3 *mm* без навођења специфичног дела узорковања. Дебљина неспецифичног дела зида из студија је процењена на 254-529 μm (63).

Хистолошка грађа радијалне артерије одговара мускуларном типу артерија. Њена интима је танка са лагом до умереном хиперплазијом, а туница медиа позамашна са обиљем глаткомишићних ћелија. Њена унутрашња еластична ламина је доброразвијена и дефинисана, иако нека истраживања наводе постојање многобројних фенестрација, што објашњава њену подложност атеросклерози (54,64). Њени *vasa vasorum* не пенетрирају у тунику медију, што практично значи да јој је довољно снабдевање крвљу из лумена, што је чини идеалним слободним графтом (61).

Истраживања су показала да радијална артерија има компарабилне клиничке резултате са унутрашњом торакалном артеријом када се користи као други по реду графт и има боље резултате од сафенског графта. Након прве године 90-95% кондуита је проходно, након три године 91%, након пет 87-95%, а након десет година 72-84% радијалних артерија је проходно (58).

Сафенски венски графт

Велика сафенска вена (*Vena Saphena Magna*) је најдужа вена у људском телу. Припада систему површних вена доњих екстремитета. Баш као и друге вене у људском телу, она враћа деоксигенизовану крв из ткива, улива се у систем дубоких вена и враћа се у десно срце.

Она настаје спајање дорзалне вене палца и дорзалног венског лука на стопалу. Пролази са предње стране медијалног малеолуса и у свом даљем току се налази са унутрашње стране потколенице док се у колену налази иза медијалног епикондилуса фемура. У даљем току се налази са унутрашње стране бутине. Пролази кроз отвор на фасцији лати који се назива сафенски отвор и прави лук на свом ушћу са феморалном веном у феморалном троуглу (*m. sartorius*, *m. adductor longus*, ингвинални лигамент). Њихов спој се назива сафенофеморална јункција.

Њене притоке су мање површне вене чланка и стопала као што су: медијална маргинална вена (дренира плантум стопала), мала сафенска вена (ове две вене имају мноштво међусобних притока у потколеници), перфоратори (*Dodd*, *Boyle* и *Cocket*). У близини колена прима три велике притоке, у бутини постеромедијалну грану или акцесорну сафенску вену, антеролатералну или предњу феморалну кутану грану и периингинално суперфицијалну епигастричну вену, суперфицијалну циркумфлексну илијачну и суперфицијалну екстерну пудендалну вену. Такође има конекцију са поплитеалном веном преко перфоратора (65).

Резултати једне студије су показали да је јединствено стабло присутно у бутини 65% пацијената и у потколеници 45% пацијената. Остатак пацијената је имао варијанте двоструког система. Од 331 пацијента 249 (66.2%) су били мушког пола, а 112 (33.8%) женског. 162 пацијента (49%) су били дијабетичари, а 199 пушачи (60%). Просек година је 67 (34-98 година) и нису уочене значајне разлике у анатомији вене у овим подгрупама. Испитивање је вршено флебографски (66).

Извештаји великих регистара нам говоре да се мултипли артеријски графтови користе код 5-10% пацијената који се подвргавају овој операцији. Дакле, аутовенски графт *VSM* (*Vena Saphena Magna*) и даље остаје есенцијални кондуит за огромну већину *CABG* процедура (67).

Статистички подаци кажу да је 2018. године само у САД урађено око 340000 хируршких реваскуларизација миокарда, у годинама након 2018. Број ових операција је порастао на 400-500000. У Великој Британији се број ових процедура процењује на 7-10000 годишње. У нашој земљи се у 5 кардиохируршких институција уради преко 4000 оваквих примарних операција годишње. Укупан број операција у свету није познат, али би врло лако могао да превазиђе магични број од милион операција због симптоматске атеросклеротске болести коронарних крвних судова. Ако узмемо у обзир претходни податак да се тек 5-10% пацијената подвргавају *TAP (Total Arterial Revascularization)* процедурама и податак да је просечни број графтова по пацијенту 3.1 (68) долазимо до података да се годишње уради најмање 1 500 000 бајпасева великом сафенском венном, а овај број је засигурно много већи.

Разлог овако широке употребе овог графта је његова доступност, лакоћа препарације и лакоћа манипулације за време саме операције. Такође не треба занемарити његову версатилност и вредност при креацији композитних кондуита у случају недостатка дужине артеријског графта, као и могућност коришћења као патцх-а на аорти на месту креације проксималне анастомозе због *mismatch*-а између слободног артеријског графта и асцендентне аорте. Патентност графта је врло важна, ако не и најважнија, детерминанта дуготрајних клиничких резултата након хируршке реваскуларизације миокарда, али је такође битно стање ендотела графта, јер се ипак ради о биолошком материјалу лумена 3-4 *mm* са не много простора за лумен ако урачунамо неоендотелизацију и продукцију ЕЦМ од стране миофибробласта (69).

Сафенска вена је кондуит коришћен у првој великој серији коронарне хирургије и, уз изузетак реваскуларизације *LAD (Left Anterior Descending artery)*, представља најчешће коришћени кондуит. (70). Постоји неколико разлога за овакву рану популарност овог графта и рани ентузијазам око његове употребе: због свог релативно великог дијаметра и доступности одговарајуће дужине графта, лакоће хируршке манипулације и карактеристика зида није било тешко да се, у одсуству података о његовом трајању, добије улепшана слика овог кондуита. Постоји више техника хируршке препарације велике сафенске вене. У старту их делимо на отворену и ендоскопску хируршку технику, а отворена хируршка техника може бити класична (Слика 5) и у последње време све популарнија *no-touch* техника. Међутим, његова трајност и издржљивост су далеко од идеалног. Годину дана након хируршке реваскуларизације 10-20% сафенских венских графтова је ван функције (71). Од прве до

пете године додатних 5-10% графтова буде оклудирано, а од шесте до десете године постоперативно додатних 20-25% графтова буде избачено из строја (72). Након десете године само половина венских графтова је пролазна, а од тог броја половина графтова је без ангиографски дијагностиковане атеросклеротске болести (73). Оклузија сафенске вене настала у току прве године обично буде последица техничке природе, тромбозе графта услед повишеног периферног отпора и интималне хиперплазије. Сви сафенски венски графтови буду изложени оштећењу ендотела за време хируршке препарације графта и иницијалном излагању артеријском притиску након излагања притисцима артеријске циркулације у мањој или већој мери. Ово оштећење ендотелног слоја ћелија доводи до агрегације тромбоцита што може да изазове тромбозу сафенског венског графта и доведе до настанка акутне оклузије. Адхерирање тромбоцита на површину ендотелног слоја ћелија се такође може сматрати иницијалним догађајем у процесу развоја интималне хиперплазије. Након адхерирања на ендотелни слој ћелија тромбоцити отпуштају митогене протеине, који стимулишу глаткомишићне ћелије и изазивају њихову миграцију према лумену и њихову трансформацију у секреторни тип ћелија што доводи до интималне пролиферације и на хиперплазије интимае (74). Прва година постоперативно представља прекретницу у физиолошким процесима, већ од овог тренутка у времену атеросклероза венског графта постаје одговорна за његово даље пропадање. Интрамуралне тромбне масе и интимална хиперплазија представљају ране фазе стеросклерозе сафенског венског графта чије трајање умногоме зависи од корекције фактора ризика болесника (75). Временом долази до инкорпорирања масноћа на местима интималне хиперплазије што резултује стварањем атеросклеротских плакова који временом доводе до стенозе и на крају оклузије графта. Ови плакови нажени унутар сафенских венских графтова се морфолошки и структурално доста разликују од атеросклеротских плакова виђених унутар коронарих артерија (76).

Изузетно битан фактор за патентност графта јесте коронарни крвни суд који се реваскуларизује. Најбољу проходност имају графтови којима се реваскуларизује ЛАД (*Left Anterior Descending artery*), умерену проходност имају венски графтови за дијагоналну артерију, гране циркумфлексне артерије и постерионду десцендентну артерију, док венски графтови постављени на позицију главног стабла имају најслабију проходност (57). Други фактори пролазности сафенског венског графта су пол, године пацијента, коморбидитети као што су дијабетес мелитус, хронична бубрежна

инсуфицијенција, артеријска хипертензија и дислипидемија. Болесници женског пола, млађи болесници и они са дијабетесом имају мање трајање сафенског венског графта (77)

Приликом процене патентности сафенског венског графта са више дисталних анастомоза (*Y-graft, T-graft, infinity graft* конфигурације), тј. секвенционалне графтове. Верује се да је се најбоља проточност секвенционалних графтова постиже креирањем последње дисталне анастомозе на дисталном кориту коронарне артерије са најбољим *runoff*, док се коронарне артерије мањег лумена анастомозирају проксималније анастомози са асцендентном аортом не би ли се направила што већа сличност са артеријским стаблом и гранама у циркулацији. Оваква техника осигурава највећу проточност кроз графт и самим тим осигурава проточност графта.

Грађа велике сафенске вене

Велика сафенска вена (*v. saphena magna*), је највећа површинска вена доњих екстремитета, која прикупља готово сву крв из површног венског система ноге. Она се пружа дуж унутрашње стране ноге од стопала до препоне, где се улива у феморалну вену. Настаје на дорзалној страни стопала из унутрашњег дела дорзалне венске мреже стопала и унутрашње маргиналне вене, а завршава се уливањем у феморалну вену, мало испод ингвиналног лигамента. Велика сафенска вена је најдебљег зида у региону, обавијена танким листом површне фасције и увек је окружена извесним слојем поткожног масног ткива. Ова вена има око дванаест пари залистак према свом лумену и један стални залистак на ушћу у феморалну вену (78). Поред њене физиолошке улоге великог сабирног стабла, захваљујући бројним анастомозама које спајају површне са дубоким венама ноге, она се може у целини одстранити, без штете по крвоток, под условом да су дубоке вене интактне грађе и функције.

Велика сафенска вена је била предмет бројних истраживања због подложности развоја тромбофлебитиса или варикозних измена, (79) међутим посебно због погодности своје конституције за употребу у својству графтова (кондуита) при извођењу аорто-коронарних байпасева. Ова вена је сматрана кондуитом избора због своје површинске позиције што је чини лако доступном, погодна је јер дубљи крвни судови одржавају крвни проток након њеног уклањања, а њена велика дужина омогућава креацију више графтова од једне сафенске вене (80).

Велика сафенска вена нормалне грађе зида, има танку интиму сачињену од ендотела и субендотелног везивног ткива у коме се налазе уздужне оријентације глаткомишићне ћелије. Између субендотелног везивног ткива тунике интима и тунике медије (средишњег слоја), налази се рудиментирана унутрашња еластична мембрана. Туника медија је сачињена од глаткомишићног ткива спирално-циркуларне оријентације ћелија и променљиво заступљеног екстрацелуларног матрикса сачињеног од уских снопова колагених влакана. Туника екстерна (адвентиција) се састоји од растреситог везивног ткива са лонгитудинално оријентисаним сноповима колагених влакана, мањим уделом еластичних влакана и поседује уздужног простирања, снопове глаткомишићног ткива. Ова туника садржи ваза вазорум, лимфне судове и нервна влакна. Спољашња еластична мембрана, сачињена од више концентричних слојева дисконтинуираних еластичних ламела, налази се између тунике медије и адвентиције (81). Међутим, овај модел нормалности организације зида великих сафенских вена, показао се као права реткост у узорцима вена које се користе за потребе кардиохируршких интервенција, а претходне студије су показале да постоје значајне структурне варијације у грађи зида великих сафенских вена међу људима (78,81).

Морфологија и физиологија великих сафенских вена

Структура нормалног венског зида је слична структури артеријског јер се оба крвна суда састоје од три дистинктивна слоја: интима, медије и адвентиције. Ови слојеви су раздвојени интерним и екстерним еластичним слојем. Међутим, ћелијске и фиброзне компоненте вене су у знатно мањем броју него што је то случај код артерија, нарочито у слоју медије и екстерном еластичном слоју, што чини зид вене тањим од зида артерије компарабилне анатомије. Ерһрин-В4 значајно доприноси овој разлици у дебљини зида јер смањује регрутацију ћелија, ћелијску пролиферацију ЕРК дефосфорилацијом и дебљину зида вене у зрелом ткиву (82).

Биологија и ембриологија великих сафенских вена

Прилагођавање аутологних венских графтова дуго је било предмет интересовања због сличних физиолошких карактеристика и клиничких последица у односу на одговор на оштећење артерија. Некада се широко веровало да су њихови механизми идентични. Чак је и термин "неоинтимална хиперплазија", који је обично повезан са патолошким

ремоделовањем артерија, проширен како би описао прекомерно ремоделовање венских графтова. Ова опажања су довела до примене тренутних терапијских мера након хируршког захвата које обухватају аутологне венске графтове, који показују карактеристике сличне онима које се јављају у обољењима артеријских крвних судова. Вероватно је да се прилагодјавање венских графтова разликује од процеса ремоделовања зидова артеријских крвних судова због специфичних молекуларних механизма укључених у овај процес. Разумевање детаља прилагодјавања аутологних венских графтова има кључни значај у области васкуларне хирургије. Почетно се сматрало да је одговор на уградњу аутологног венског графта суштински исти као и одговор на уградњу артерија. Ова сличност је довела до преузимања терминологије и терапијских стратегија позајмљених из проучавања обољења артерија. На пример, термин "неоинтимална хиперплазија" се користио да би се описао ненормалан раст ткива унутар венских графтова, упоређујући га са сличним процесима у артеријама. Међутим, како су истраживања напредовала, постало је очигледно да се молекуларни механизми који стоје иза прилагодјавања венских графтова знатно разликују од оних одговорних за ремоделирање зидова артеријских крвних судова. Ова разлика има важне клиничке импликације. Указује на то да терапијске стратегије треба прилагодити специфичним карактеристикама и захтевима венских графтова како би се оптимизовали дугорочни успех и смањиле компликације. Историјско уверење у јединствен механизам прилагодјавања аутологних венских графтова и одговора на оштећење артерија изазвано је растућим научним доказима. Ово признавање молекуларних разлика довело је до прецизнијих и прилагођенијих приступа хируршким захватима са венским графтовима, што је на крају побољшало исходе пацијената и ефикасност терапијских интервенција. (83)

Све до открића кључног транскрипционог фактора *COUP-TFII* у ембриолошком развоју вена 2005. године, постојало је опште мишљење да је вена темељно васкуларно стање од којег се развијају недиференцирана васкуларна ткива. Разлог за ову претпоставку био је тај што ткиво зида вена није обиловало специфичним васкуларним маркерима. У то време, било је познато да у процесу спецификације развоја крвних судова ембриона, каскада сигнала *Sonic Hedgehog (SHH)* и *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*, присутна у ендотелним ћелијама артерија, покреће *Delta-Notch* каскаду сигнализације. Ова каскада даље иницира експресију *Ephrin-B2*, која је карактеристична

за ћелије артеријског ендотела, док сузбија експресију *Ephrin-B4*, познатог маркера венског ендотела.

Међутим, овој каскади активно супротставља *COUP-TFII* током развоја вена, што има за последицу инхибицију развоја *VEGF* рецептора у раним фазама развоја вена. Ова блокада онемогућава активацију *Delta-Notch* каскаде и спречава експресију *Ephrin-B2* у ендотелу вена, истовремено повећавајући експресију *Ephrin-B4*. Ови сложени механизми указују на то да развој васкуларних структура зависи не само од фактора околине, већ и од специфичних молекуларних механизма.

Откриће улоге *COUP-TFII* у овом процесу представља кључну прекретницу у нашем разумевању развоја васкуларних система. Оно нам омогућава да препознамо како молекуларни фактори попут *COUP-TFII* играју пресудну улогу у усмеравању судбине ендотелних ћелија и одређивању да ли ће постати део артеријског или венског система. Ово сазнање има дубоке импликације не само за разумевање ембриолошког развоја, већ и за развој нових терапијских приступа васкуларним болестима и регенеративној медицини (84).

Једна структура дистинктивно разликује венски од артеријског крвног суда: валвула. Њена функција је осигуравање једносмерног протока крви у венском систему, међутим, њено присуство доприноси импеданци ламинарног тока кроз вену, у још већој када је у питању венски графт са већим протоком и притиском артеријске циркулације. Ова нативна сметња протоку у крвном суду који је цилиндричног облика може да изазове значајне турбуленције у протоку крви што је познати узрок оштећења васкуларног ендотела и сматра се механизмом настанка интималне хиперплазије у аутоvensким графтовима (85). У својим нормалним физиолошким условима, анатомска структура вена пролази кроз константну адаптацију протоку и волумену. Комплијантност танког зида вена подржава ово флексибилно прилагођавање варијабилној количини венске крви. Емпиријски се запажа да се вена прилагођава новонасталим променама у њеном зиду када се нађе у улози аутоvensког графта, АВ фистуле или само варикозне вене.

Главне целуларне компоненте венског зида у стању мировања су ендотелне ћелије и глаткомишићне ћелије. Ћелије ендотела формирају један равни слој ћелија са луменске стране унутрашње еластичне мембране и играју кључну улогу у интегритету и функцији зида вене. Здраве ћелије ендотела луче вазорелаксирајуће простагландине (*PGI2*) као и азот оксид (*NO*). Простагландине производе углавном циклооксигеназе, а *NO*-синтетазе (*NOS*) и раде заједно на превенцији активације, адхезије и агрегације тромбоцита. *NO* је

такође познат као негативни кондуктор експресије хемијскијх медијатора секреције и инхлаторних ћелијских адхезионих молекула *ICAM-1* и *VCAM-1* (86). Ове физиолошке функције ћелија ендотела су врло битне у иницијалном супротстављању формирања неоинтималне хиперплазије аутовенског графта.

Глаткомишићне ћелије такође играју важну улогу у хомеостази зида крвног суда. Интеракција између глаткомишићних ћелија и екстрацелуларног матрикса промовише стање мировања глаткомишићних ћелија уз помоћ *TGF- β* , хепарина и хепарину сличних молекула. *TGF- β* негативно регулише митогенезу глаткомишићних ћелија, стабилизује екстрацелуларни матрикс који делује као зид против миграције глаткомишићних ћелија. Хепарин неутралиша фактор раста фибробласта (*FGF*) и смањује пролиферацију ћелија (87) што указује на активно одржавање стања мировања од стране ендогених молекула. Нормални зид карактерише низак ниво апоптозе и пролиферације ћелија што може да утиче повољно на интегритет зида вене у његовим физиолошким условима, међутим, након оштећења зида или након промене у протоку, крвни судови могу да повећају ниво пролиферације и апоптозе, реагујући на стимулус.

Хипотеза

Одржавање дуготрајне проходности графтова јесте један од основних циљева коронарне хирургије. Оклузија графтова представља сложен процес који се може јавити код многих венских графтова. Иако су интимална хиперплазија и мање сужења графтова чести у годинама након операције, главни узроци ране и дугорочне оклузије су још увек слабо схваћени.

Оклузија венских графтова не представља довољно ретку појаву у коронарној хирургији и може имати озбиљне последице по пацијенте. Механичка траума, поремећаји ендотела, тромбоза, интимална хиперплазија, вазоспазам и оксидативни стрес су различити фактори повезани са оклузијом графтова. Морфолошке и функционалне карактеристике венских графтова играју кључну улогу у њиховој функционалности или дисфункцији, а такође су важне и карактеристике коронарних артерија које се повезују с графтовима, укључујући степен сужења, пречник лумена, присуство атеросклерозе и претходне хируршке процедуре. Све ове факторе треба размотрити приликом доношења одлука о хируршкој реваскуларизацији.

Хируршка техника припреме графтова, начин извођења анастомоза, тип раствора за интраоперативно складиштење графтова, температура раствора и притисак дилатације графтова такође играју кључну улогу у очувању њихове дуготрајне функционалности. Системски фактори ризика, као што су старост пацијента, пол, дијабетес типа 2, висок крвни притисак, и поремећаји липида, такође значајно утичу на судбину венских графтова.

Важно је напоменути да оклузија графтова не резултира увек клиничким симптомима, што зависи од узрока и механизма оклузије и места где се анастомоза налази. Очување графтова интраоперативно, провера протока крви и постоперативна употреба лекова за спречавање стварања крвних угрушака и лекова за контролу нивоа липида, заједно с корекцијом фактора ризика, могу значајно смањити ризик од оклузије венских графтова.

Ако узмемо у обзир да се годишње уради преко милион процедура хируршке реваскуларизације миокарда, да је просек коришћених графтова 3.1 по пацијенту, долазимо до претпоставке да годишње буде уграђено више од милион венских графтова током процедура урађених широм света. Било какав утицај, био он позитиван или

негативан, на интегритет венског графта доводи до последица код огромног броја пацијената.

Избор раствора за складиштење венских графтова може имати утицај на стање зида венског графта у тренутцима када се одлучује његова судбина, када прелази из површног венског система ниских протока и притисака у систем артеријске циркулације, високих притисака, *shear* стреса и пулсатилних сила, када је свака помоћ добродошла. Та помоћ може бити представљена у виду адекватног раствора за складиштење. Уколико је утицај раствора на ендотел сафенске вене негативан из било ког разлога, може доћи до потенцијалних детрименталних ефеката који могу имати клиничког значаја. Знамо да број венских графтова који су ван строја у току прве године постоперативно иде и до 10%, након првих 5 година до 25-30% и 40-60% након 10 година, а да је отприлике половина проточних графтова након 10 година захваћено атеросклерозом.

Не постоји један униформни став у литератури поводом избора раствора за складиштење, па је тако циљ овог истраживања показати који је оптималан раствор за складиштење венских графтова препарисаних конвенционалном хируршком техником.

Постоји варијабилност у утицају раствора за складиштење на ендотел венског графта, и док не постоји концензус око избора оптималног раствора за складиштење венских графтова, постоји велики избор раствора за ову сврху. Претпоставља се да је очување интегритета и функције ендотела венског графта од великог, ако не и кључног значаја за функцију и дуготрајност овог кондуита. Испитивање интегритета одабраних раствора може довести до побољшања трајања венских графтова и беневољентно утицати на клиничке резултате хируршке реваскуларизације миокарда.

Циљеви рада

Упоредити морфолошке особине туника интима биопсираних узорака препарисаних алографтова вена сафена, подељених у групе истраживања по основи употребе четири различита складишна раствора (хепаринизованог физиолошког раствора, хепаринизоване аутологне пуне крви, свеже замрзнуте плазме и Бретшнајдеровог кардиоплегичног раствора) и дефинисати утицаје методе протекције на степен одржања морфолошког интегритета туника интима споменутих крвних судова.

Светлосномикроскопском анализом дефинисати степен варијабилности морфолошких особина унутар циркумференције зидова биопсијских узорака препарираних алографтова вена сафена и дефинисати могуће помесне утицаје на степен одржања морфолошког интегритета тунике интима споменутих крвних судова.

Истражити могућност постојања утицаја четири различите методе препарације венских алографтова употребом различитих складишних раствора (хепаринизованог физиолошког раствора, хепаринизоване аутологне пуне крви, свеже замрзнуте плазме и Бретшнајдеровог кардиоплегичног раствора) на основу хистолошких и имунохистохемијских особина присутног ендотелног покрива тунике интима анализираних венских алографтова.

Испитати инциденцу пораста кардиотропних ензима у непосредном постоперативном току упоређивањем вредности *TnI*, *СК* и *СК-МВ* након 6, 18 и 42 часа постоперативно у односу на растворе коришћене за протекцију венских графтова. (хепаринизованог физиолошког раствора, хепаринизоване аутологне пуне крви, свеже замрзнуте плазме и Бретшнајдеровог кардиоплегичног раствора)

Материјал и методе

Истраживање је спроведено на ткивним узорцима, узетих у виду попречних биопсата великих сафенских вена, пацијената подвргнутих хируршким реваскуларизацијама миокарда употребом аутоvensких графтова, изведених између јула 2021. и септембра 2022. године на Клиници за кардиоваскуларну хирургију, Клиничког Центра у Нишу.

Критеријуми за укључивање у студију клиничких података пацијената, као и биопсијских узорака њихових великих сафенских вена, коришћених приликом реваскуларизације миокарда ових пацијената, обухватили су постојање атеросклерозног обољења коронарних артерија са индикацијама за хируршку реваскуларизацију миокарда, које су одређене од стране конзилијума кардиохирурга Клинике за кардиохирургију Клиничког Центра у Нишу. Код учесника је била обавезна индикација за употребом барем једног аутоvensког графта ради укључења у аналитику истраживања. Критеријуми неукључивања били су, варикозно измењене велике сафенске вене, стање након тромбофлебитиса, посттромботски синдром, валвуларне болести миокарда са индикацијом за хируршко лечење.

Ова студија је спроведена као проспективно рандомизовано истраживање, у којој је случајни одабир испитиваних учесника (пацијената), код којих су претходни критеријуми били задовољени, обављан насумичним рачунарским избором (независно од свог пола, старосне доби или било каквих пратећих здравствених проблема), као и избор употребљеног типа раствора за интраоперативно привремено складиштење аутоvensког графта начињених хируршком препаратацијом великих сафенских вена. Четири групе истраживања су начињене класификацијом биопсата великих сафенских вена, на основу типа раствора којем су ове вене, као кондуити за оперативну реваскуларизацију миокарда, биле изложене током интраоперативних процедура складиштења. У овој студији су коришћена четири различита типа раствора:

- 1) Хепаринизовани физиолошки раствор,
- 2) Хепаринизирана пуна аутологна венска крв пацијента,
- 3) Свеже замрзнута плазма одговарајуће крвне групе и
- 4) Комерцијални раствор *Custodiol*, за интраоперативно складиштење кондуита.

Састав и припрема презервационих раствора за интраоперативно складиштење аутовенских графтова великих сафенских вена:

- **Хепаринизирани физиолошки раствор (ХФР).** Хепаринизирани физиолошки раствор се добија интраоперативном припремом, растварањем 1 ml нефракционисаног хепарина који садржи 5000 и.ј./ml (5000 и.ј./ml у облику хепарин-натријума, Галеника, Београд, Србија, број серије 52952) у 100 ml физиолошког раствора (*Natrii chloride infundibile*, 0,9% натријум-хлорид растворен у стерилној редестилованој води за ињекције, Хемофарм, Шабац, Србија, број серије 13VL5A).

- **Хепаринизирана аутологна пуна венска крв пацијента (ХАК).** Венска крв пацијента, у количини од 100 ml, узоркује се интраоперативно кроз централни венски катетер (ЦВК) на стерилни начин, пре пуне хепаринизације пацијента и повезивања са машином за екстракорпоралну циркулацију, у операционој сали. Добијена аутологна венска крв се хепаринизује једним милилитром раствора нефракционисаног хепарина (5000 и.ј./ml у облику хепарин-натријума, Галеника, Београд, Србија, број серије 52952).

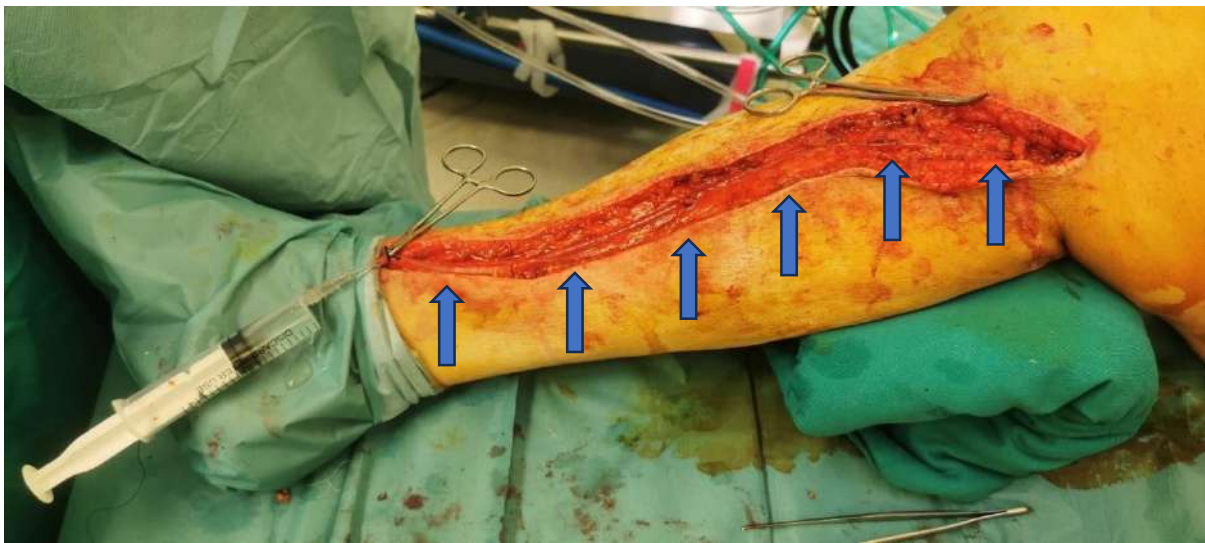
- **Свеже замрзнута плазма (СЗП).** Свеже замрзнута плазма одговарајуће крвне групе, требована из Завода за трансфузију крви у Нишу, добијана је из пуне крви једног донора, замрзнута у року од 8 сати од донирања крви, а затим испоручена у одмрзнутом стању на дан операције, без додавања било којих додатних метаболита или лекова. Једна јединица СЗП садржи 250 ml плазме и 500 mg фибриногена у цитратном антикоагуланту са процењеном вредношћу албумина од 26 g/l и 57 g/l укупних протеина.

- **Комерцијални кардиоплегични раствор *Custodiol HTK (Bretschneider)* (ХТК).** Комерцијални кардиоплегични раствор *Custodiol (Dr Franz Kohler Chemie, Bensheim, GMBH*, број серије 2231282) је кристалоидни водени раствор са ниском концентрацијом јона натријума, калцијума, калијума и магнезијума, а који садржи високу концентрацију ХТК (Хистидин, Триптофан, Кетоглутарат и осмотски агенс Манитол), чиме се повећава пуферски капацитет раствора за време исхемијске ацидозе. Осим Манитола, сви конституенти се нормално налазе у људском организму. Раствор Кустодиола је комерцијални раствор, такође се назива по аутору као *Bretschneider*-ов раствор или по аминокиселинама које садржи као ХТК раствор (Хистидин, Триптофан, Кетоглутарат). Ова три назива су изједначена у тексту као синоними и односе се на исту врсту раствора.

Венотомија и биопсирање великих сафенских вена

Процедура прикупљања сегмената великих сафенских вена обављана је током извођења хируршке реваскуларизације миокарда, а у складу са протоколом Клинике за кардиохирургију Клиничког Центра у Нишу. Ова процедура укључивала је традиционалне хируршке технике и принципе, укључујући препарацију вене и припрему за канулацију. Препарација и складиштење велике сафенске вене је била поверена пару искусних кардиоваскуларних хирурга, од којих сваки у свом искуству има више од 100 препарација сафенских венских графтова годишње, отвореном конвенционалном техником хируршке препарације. Иницијални хируршки рез коже је лоциран на 5 *cm* изнад медијалног малеолуса у пројекцији велике сафенске вене и настављан је кранијално уз праћење тока велике сафенске вене (Слика 1). Дужина препарисања венског графта се одређивала преоперативно на основу броја планираних бајпасева. Околно масно ткиво се одваја тупом препарацијом и оштром дисекцијом од адвентицијалног слоја велике сафенске вене. Након идентификације велике сафенске вене пластична канила је пласирана кроз рез венотомије, у региону изнад унутрашњег малеолуса, и обезбеђена лигатуром, а бочне гране лигиране или клипсоване стандардним хируршким техникама. Потом се приступало инсуфлацији и дилатацији сафенског венског графта не би ли се проверила евентуална места прекида континуитета зида. Посредством уведене пластичне каниле у препарисану велику сафенску вену, обави се дилатација сафенског венског графта, ињицирањем (шприцем од апирогене пластике, запремине 20 милилитара) потребне запремине, једног од четири употребљавана раствора за интраоперативну препарацију и складиштење венских кондуита. Након ове процедуре узорак сафенске вене, у дужини од 0.5-2 *cm* проксимално од иницијалног реза, а око 5 *cm* изнад медијалног малеолуса, добијен је оштром секцијом (биопсиран) и субмерзиран у контејнер од инокса који је испуњен истом врстом раствора за препарацију и складиштење, а који је претходно коришћен у сврхе инсуфлације и дилатације вене. Паралелно са овим кораком, венски графт је потопљен у средство исте врсте као и коришћено за дилатацију графта, а затим чуван на температури операционе сале све до трансплантације и анастомозе са одговарајућим коронарним крвним судом, а у просечном временском периоду од 32.1 минут (и распоном трајања од 12 до 67 минута). Сви раствори су били температуре окружења, што су температурни услови операционе сале, са распоном од 14° C до 24° C (просечна температура операционе сале износи 17° C).

За време овог периода биопсијски узорак ткива сафенске вене такође се налази у топлој исхемији. Узорак ткива се потом вади из контејнера за складиштење и, ради симулације времена које актуелни сафенски венски графт проводи у раствору за препарацију и складиштење, складишти у пластични контејнер са 4% пуферованим воденим раствором формалдехида. Све наведене хируршке технике се рутински користе на Клиници за кардиохирургију КЦ Ниш, а за потребе извођења истраживања добијена је сагласност Етичког комитета УКЦ Ниш (одлука број 3830/7. од 04. 02. 2020. године) и Етичког комитета Медицинског Факултета у Нишу (одлука број 12-15637-2/8. од 24. 12. 2019. године).



Слика 1. Испрепарисана велика сафенска вена потколеног сегмента конвенционалном хируршком техником, коришћен хепаринизирани физиолошки (0.9% NaCl) раствор.

За потребе истраживања, укупно је узорковано 200 ткивних узорака великих сафенских вена од 200 испитаника, 46 жена и 154 мушкараца, просека година 63.8, медијаном дистрибуције од 67 година старости, са најмлађим пацијентом од 41 године старости и најстаријим од 80 година старости у тренутку извођења оперативног захвата.

Хистотехнолошка обрада ткива, хистохемијска и имунохистохемијска обележавања ткива, као и морфометријске анализе обављене су на Катедри за хистологију и ембриологију Медицинског Факултета у Нишу.

Хистотехнолошка обрада ткива и методе обележавања ткивних структура

Сви ткивни узорци великих сафенских вена ($n=200$), након 48 часова фиксације 4%-тним пуферисаним воденим раствором формалдехида, подвргнути рутинским

методама припреме за анализу на светлосном микроскопу. Укратко, ткива су подвргнута дехидратацији, просветљавању, инфилтрацији парафинима и микротомом од њих су начињени ткивни исечци, који се након адхерирања за предметна стакла подвргавају методама хистохемијског и имунохистохемијског обележавања циљаних ткивних структура и коначно доводе до формирања трајних светлосномикроскопских препарата. Од хистохемијских метода употребљене су хематоксилин-еозин и модификована Моватова пентахромска метода (88). Парафинизовани ткивни исечци свих 200 узорака великих сафенских вена, хистохемијски су обојени методом хематоксилин-еозин, чиме су начињени трајни светлосномикроскопски препарати, употребљени за потребе опште морфолошке анализе целог узорка, утврђивања типова хистолошке грађе зида вена, као и степена захваћености дегенеративним променама, али и избора ужег узорка, за потребе имунохистохемијског обележавања на антиген *CD34*. У селекцији узорака за даље имунохистохемијско обележавање, употребљена је и модификована Моватова пентахромска метода (88), која је својим специфичним колорним резултатима пружила увид у присутност, степен развијености и дистрибуцију: глаткомишићних ћелија, еластичних везивноткивних структура, колагених влакана и гликозаминогликана, али и дегенеративних промена у зидовима вена, типа фиброплазије туника интима или флебосклерозе њихових зидова.

Из укупног узорка, након утврђивања хистолошких особина зида узорака великих сафенских вена светлосномикроскопском анализом хистохемијских препарата, одабрано је 40 репрезентативних узорака интервалвуларних сегмента великих сафенских вена, са подједнаким бројем узорака из сваке групе примењених раствора за интраоперативно складиштење венских кондуита, као и подједнаком заступљеношћу присуства и одсуства фибропластичних промена тунике интима унутар испитиваних група. Анализа података извршена је помоћу рачунарског програма *G Power 3.1.9.2*. са нивоом значајности од 95% и вероватноћом грешке првог типа (α) од 0.05. Прорачун је показао да је неопходно укључити 40 пацијената у ову студију, који су били подељени у 4 подгрупе са по 10 пацијената у свакој подгрупи. У 40 одабраних испитаника спада 9 жена и 31 мушкарац просечних година 65.8, медијаном дистрибуције од 69.5 година старости, са најмлађим пацијентом од 41 године старости и најстаријим од 80 година старости у тренутку извођења оперативног захвата. Остали релевантни клинички подаци налазе се у табели 1.

Табела 1. Клиничке карактеристике пацијената, чији су узорци великих сафенских вена били одабрани за имунохистохемијско обележавање антигена *CD34*.

Клиничке карактеристике пацијената		
	Тип 2 дијабетес	Без дијабетеса типа 2
Мушки пол	18	13
Женски пол	5	4
Године старости	66 (41-80)	68 (42-80)
<i>EuroSCORE</i>	3.48 (0.73-10.1)	3.39 (0.81-11.2)
<i>BMI</i>	<i>BMI</i> 28.3 (23.7-34.5)	<i>BMI</i> 26.1 (22.1-33.2)
<i>BSA</i>	<i>BSA</i> 2.1 (1.7-2.5)	<i>BSA</i> 1.9 (1.6-2.3)
<i>LVEF</i> (%)	44.3% (25-68)	46.1% (27-69)
Активни пушач	9 (4 жене, 5 мушкараца)	10 (4 жене, 6 мушкараца)
Хипертензија	95% (19) користи антихипертензиве	90% (18) користи антихипертензиве
<i>HbA1C</i> (%)	6.61 (5.2-8.8)	Без мерења

Након депарафинације у термостату и ксилолу, хистолошки препарати са исечцима парфинизованог ткива великих сафенских вена су рехидратисани провођењем кроз етанол са опадајућим концентрацијама (100%, 96%, 80%, 75%) и доведени су до дестиловане воде. Процедура бојења је настављена инкубацијом ткивних узорака са трипсином у циљу демаскирања антигена током 60 минута, након чега је извршена блокада ткивних пероксидаза коришћењем 3% раствора водоник пероксида у трајању од 10 минута. Након испирања у фосфатном пуферу, на рехидратисане ткивне исечке нанесено је моноклонско антители на *CD34* (*anti-CD34*, произвођач: *Dako*, каталогски број: *M716501*, разблажење 1:50). Ткивни исечци великих сафенских вена су остављени преко ноћи на температури од 4° Целзијусових, а бојење је настављено током сутрашњег дана применом секундарног антители коњугованог са пероксидазом рена 30 минута (*EnVision-Flex* за визуализацију, произвођач *Dako*). Између наведених корака, препарати су испирани фосфатним пуфером (*pH=7,2*). Након експозиције хромогену (диаминобензидин, ДАБ) из коришћеног визуализационог система, ткивни узорци су

контрастно обојени *Mayer*-овим хематоксилином, након чега су препрати дехидратисани кроз серију етанола са растућом концентрацијом (75%, 80%, 96%, 100%), просветљени у ксилолу и монтирани коришћењем канада балзама и покровних љуспица.

Микроскопски препарати су анализирани употребом светлосног микроскопа *Olympus BX50 (Olympus, Japan, Tokyo)* опремљеним дигиталном камером (*Leica DFC 295, Germany, Wetzlar*). Фотографије микроскопских хистохемијских и имунохистохемијских препарата попречних пресека зидова сафенских вена, начињене под различитим увећањима и сачувани у дигиталном формату (*Tagged Image File Format - .TIFF*). За потребе морфометријске анализе имунохистохемијских препарата, фотографисање целовитих зидова попречних пресека великих сафенских вена је учињено под сталним укупним микроскопским повећањем од $\times 40$, а добијене дигиталне микрофотографије су у наставку процедуре, обједињене у један панорамски приказ целовитог пресека вене и калибрисане за одговарајуће повећање. Микро-морфометријска анализа је обављена уз помоћ програма за анализу слика *ImageJ 1.53 version (Wayne Rasband National Institute of Health, USA)* у циљу квантификације степена везивања моноклоналних антитела за *CD34* рецепторе на ендотелу микроскопских ткивних узорака сафенских вена, али и утврђивања метричких параметара вена. На калибрисаним панорамским сликама трајних имунохистохемијских препарата са обележеним антигеном *CD34*, обављено је издвајање морфометријских фракција, исцртавањем њихових контура употребом светлосног пера (дигиталне оловке), унутар програма за морфометријску анализу слика, чиме је омогућено да програм обави израчунавање основних морфометријских параметара. Током морфометријске анализе, евидентирани су следећи основни и изведени морфометријски параметри попречних пресека великих сафенских вена узорка: 1) површина лумена, 2) обим луминалне контуре, 3) површина зида вене, 4) укупна површина попречног профила венских судова, 5) обим спољашње контуре венског суда, 6) процентуални удео површине лумена вена у укупној површини попречног профила вена, 7) површине хистолошких компоненти појединачних туника зидова крвних судова (тунике интима, циркуларног подслоја тунике медије и спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја), 8) њихов процентуални удео у површини зида вена, 9) главни и минимални Феретов дијаметар лумена, свих туника и спољашње контуре венског суда, 10) дебљина тунике интима и 11) процентуална заступљеност имунохистохемијски маркираног антигена *CD34*. Основне параметре израчунавао је морфометријски програм, а изведени параметри су израчунавани на основу односа основних параметара.

Израчунавање изведених морфометријских параметара:

Површина зида вене је израчуната као збир површина хистолошких компоненти појединачних туника зидова крвних судова (тунике интима, циркуларног подслоја тунике медије и спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја).

Процентуални удео површине лумена вена у укупној површини попречног профила вена израчунаван је тако што је вредност површине лумена дељена вредношћу укупне површине попречног профила венских судова, а добијена вредност помножена са 100.

Процентуални удео површине сваке од хистолошких компоненти појединачних туника зидова крвних судова (тунике интима, циркуларног подслоја тунике медије и спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја), израчунат је дељењем вредности површине тунике вредношћу укупне површине зида вене, а добијена вредност је била помножена са 100.

Дебљина тунике интима израчуната је на следећи начин. Прво је израчуната разлика између главних и минималних Феретових дијаметара који припадају спољашњој контури тунике интима појединачне вене и њеног лумена. Половине добијених вредности главних и минималних Феретових дијаметара су сабране и подељене са два.

Процентуални удео *CD34*-позитивних (*CD34*поз%) и *CD34*-негативних (*CD34*нег%) ендотелних ћелија у ендотелу туника интима узорака сафенских вена израчунат је као однос дужине контуре тунике интима према лумену (обим лумена) и збирних дужина добијених мерењем подручја у којима је имунохистохемијски детектовано присуство *CD34* антигена. Процентуални удео *CD34*-позитивних ћелија је израчунат тако што је вредност дужина *CD34* позитивног или негативног ендотела подељена са вредношћу дужине контуре тунике интима према лумену (обим лумена), а добијени резултат помножен са 100.

За статистичку анализу вредности клиничких и морфометријских варијабли коришћен је статистички пакет *SPSS* верзија 2.0 (*IBM, Armonk, New York, US*). Обављене су три категорије статистичких процедура анализе, дескриптивне, корелативне и корелационе. Статистички значај је одређен за вредност $p < 0.05$. Статистичка хипотеза је тестирана за вредност нивоа ризика од $\alpha = 0.05$. Минимални узорак неопходан за детектовање ефекта величине 0.05 у анализи варијанте за четири групе и статистички значај од 0.9 јесте 40 учесника.

Методе дескриптивне статистичке анализе су изражене кроз следеће параметре испитиваних низова података: 1) просечна вредност, 2) стандардна девијација, 3) медијана, 4) минимална и 5) максимална вредност низа.

Компаративна статистичка анализа је обављена употребом следећих тестова: 1) Студентовог т-теста за независне узорке и 2) т-теста за упарене групе.

Корелативна статистичка анализа је обављена употребом Пирсонове корелације (потребно је да је $r > 0.2$ да би се утврдила слаба корелација или $r > 0.6$ за јаку корелацију; код постојања корелације $p < 0.05$ r је коефицијент корелације, а p је статистичка значајност.

Материјална средства за извођење истраживања обезбеђења су делом из пројекта Министарства науке технолошког развоја и иновација РС: „Антиоксидативна заштита и потенцијали за диференцијацију и регенерацију мезенхималних матичних ћелија из различитих ткива током процеса старења“ (ЕВБ 175061 и МФ-Ниш 451-03-9/2021-14/200113), неопходних за извођење имунохистохемијског дела истраживања; као и из интерног пројекта МФ-Ниш Катедре за хистологију и ембриологију „Анализа морфолошке дистрибуције молекуларних показатеља регенеративних потенцијала различитих диферона човека и експерименталних животиња“, (руководилац пројекта, проф. др Горан Раденковић, Катедра за хистологију и ембриологију, 2020-2023) (бр. 38/20), неопходних за извођење хистотехнолошке обраде ткивних узорака великих сафенских вена до хистохемијски обојених трајних светлосномикроскопских препарата.

Резултати

СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА ОСОБИНА ПАЦИЈЕНАТА И ЊИХОВИХ КЛИНИЧКИХ ПАРАМЕТАРА

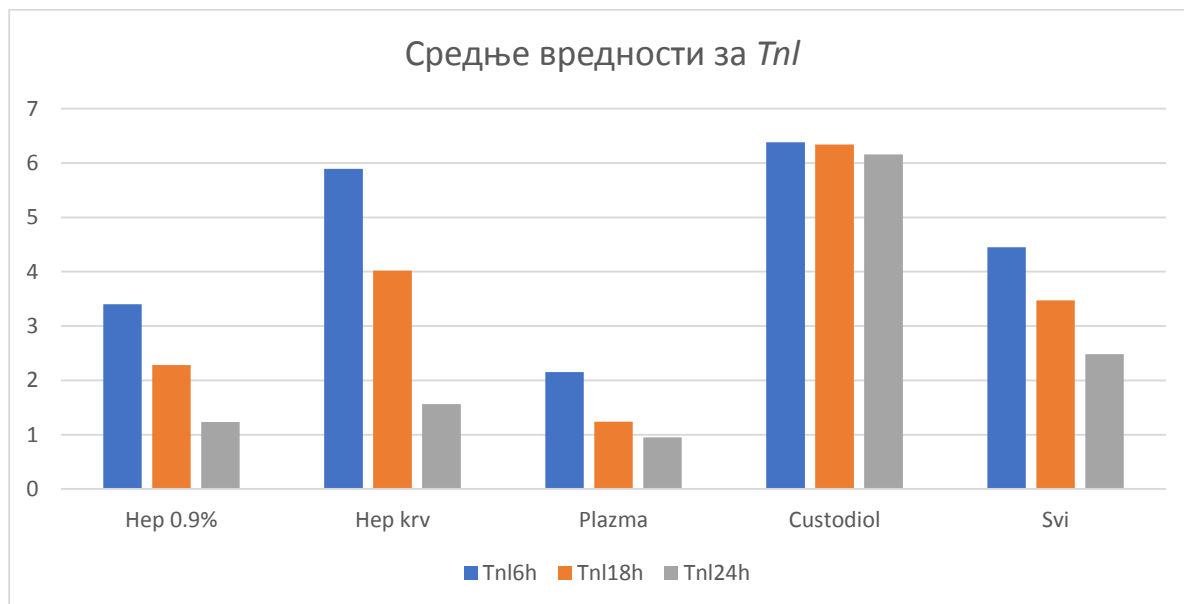
Употребом дескриптивно-статистичке анализе запажен је пад просечних вредности серумског нивоа *TnI* (*ng/ml*) код пацијената са протоком времена у постоперативном току, за све групе, али је тај пад био мањи и постпенији у групи у којој су аутовенски графтови великих сафенских вена били интраоперативно складиштени у раствору по *Bretschneider*-у (Табела 2, Графикон 1), међутим, није нађена статистички значајна разлика између група по споменутом параметру (Табела 4).

Табела 2. Дескриптивно-статистички приказ вредности за *TnI* (*ng/ml*) у серуму пацијената (забележених на 16, 18 и 42. час након операције, подељено по групама истраживања у односу на тип складишног раствора у коме су аутовенски графтови складиштени интраоперативно.

	Раствор	N	Avr	SD	Min	Max
<i>TnI6h</i>	Хепаринизирани физиолошки раствор (0.9% <i>NaCl</i>)	10	3.40	3.98	0.24	14.06
	Хепаринизирана аутологна крв	10	5.89	10.59	0.48	35
	Свеже замрзнута плазма	10	2.15	2.36	0.16	7.03
	<i>Bretschneider</i>	10	6.38	9.98	0.23	33.82
	Сви	40	4.45	7.54	0.16	35.00
<i>TnI18h</i>	Хепаринизирани физиолошки раствор (0.9% <i>NaCl</i>)	10	2.28	2.22	0.11	7.2
	Хепаринизирана аутологна крв	10	4.02	7.12	0.09	24.00

	Свеже замрзнута плазма	10	1.24	0.99	0.08	3.63
	Раствор ХТК	10	6.34	15.35	0.29	50.00
	Сви	40	3.47	8.45	0.08	50.00
<i>TnI42h</i>	Хепаринизирани физиолошки раствор (0.9% NaCl)	10	1.23	1.25	13	4.29
	Хепаринизирана аутологна крв	10	1.56	2.00	0.10	6.22
	Свеже замрзнута плазма	10	0.95	0.84	0.19	2.79
	Раствор ХТК	10	6.16	15.44	0.48	50.00
	Сви	40	2.48	7.82	0.10	50.00

вредности *TnI* су изражене у *ng/ml*



Графикон 1. Просечне вредности серумског нивоа *TnI* са постоперативним протоком времена по испитиваним групама раствора за интраоперативно складиштење великих сафенских вена.

Табела 4. Упоредње Студентовим т-тестом за независне групе. Анализа *TnI* по групама

Групе у односу на раствор		p		
I група	II група	<i>TnI6h</i>	<i>TnI18h</i>	<i>TnI42h</i>
ХФР	ХАК	0.494	0.47	0.673
ХФР	СЗП	0.406	0.191	0.549
ХФР	ХТК	0.391	0.417	0.329
ХАК	СЗП	0.29	0.236	0.384
ХАК	ХТК	0.917	0.668	0.363
СЗП	ХТК	0.209	0.307	0.301

ХФР – хепаринизовани 0.9% *NaCl* физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол)

Такође, употребом Студентовог т-теста за независне групе, није утврђена статистички значајна разлика између серумских вредности *TnI* (*ng/ml*) са протоком постоперативног времена, а зависношћу у односу на полну припадност (Табела 5), као ни за постојање дијабетеса код пацијената (Табела 6).

Табела 5. Упоредње Студентовим т-тестом за независне групе серумских вредности *TnI* (*ng/ml*) са протоком постоперативног времена, а зависношћу у односу на полну припадност.

<i>TnI</i> у односу на пол		P		
I група	II група	<i>TnI6h</i>	<i>TnI18h</i>	<i>TnI42h</i>
М	Ж	0.479	0.105	0.065

Табела 6. Упоредње Студентовим т-тестом за независне групе серумских вредности *TnI* (*ng/ml*) са протоком постоперативног времена, а зависношћу у односу на постојање дијабетеса код пацијената.

<i>TnI</i> у односу на дијабетес		p		
I група	II група	<i>TnI6h</i>	<i>TnI18h</i>	<i>TnI42h</i>
Да	Да	0.142	0.144	0.205

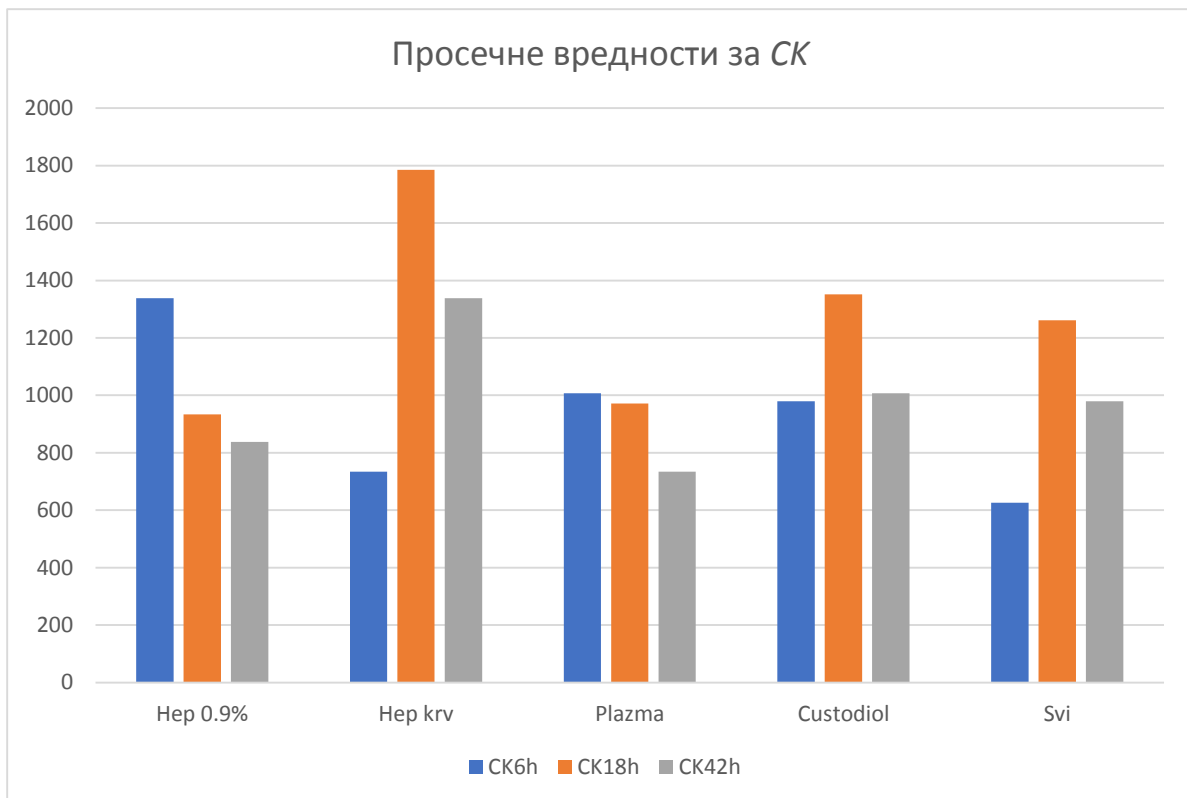
Употребом дескриптивно-статистичке анализе запажен је пад просечних вредности серумског нивоа *СК (U/L)* код пацијената са протоком времена у постоперативном току, у групама хепаринизованог физиолошког раствора и свеже замрзнуте плазме, у којима су аутовенски графтови великих сафенских вена били интраоперативно складиштени, док су у групама раствора хепаринизоване аутологне крви и раствора по *Bretschneider*-у, серумске вредности *СК (U/L)*, показале привремени пораст (у мерењу на 18. час), пре свог пада (при мерењу у 42. часу) (Табела 7., Графикон 2), међутим, није нађена статистички значајна разлика између група по споменутом параметру (Табела 8).

Табела 7. Табеларни приказ статистичких вредности за СК по групама у односу на раствор.

	Раствор	N	Avr	SD	Min	Max
<i>СК6h</i>	Хепаринизирани физиолошки раствор (0.9% <i>NaCl</i>)	10	431.67	282.04	2.70	943.00
	Хепаринизирана аутологна крв	10	533.3	386.62	265.00	1440.00
	Свеже замрзнута плазма	10	452.30	288.00	103.00	927.00
	Раствор ХТК	10	1086.9	232.00	319.00	3303.00
	Сви	40	626.04	596.00	2.70	3303.00
<i>СК18h</i>	Хепаринизирани физиолошки раствор (0.9% <i>NaCl</i>)	10	934	557.3267	85	1648
	Хепаринизирана аутологна крв	10	1785	2324.269	366	7799
	Свеже замрзнута плазма	10	971	945.0682	124	3185
	Раствор ХТК	10	1352	590.7694	231	4365
	Сви	40	1261	1464.897	85	7799

CK42h	Хепаринизирани физиолошки раствор (0.9% NaCl)	10	837.2	413	220	1600
	Хепаринизирана аутологна крв	10	1338.5	1458	120	4812
	Свеже замрзнута плазма	10	733.9	718	69	2584
	Раствор ХТК	10	1006.8	746	146	2324
	Сви	40	979.1	920	69	4812

вредности *СК* су изражене у *U/L*



Графикон 2. Графички приказ просечних статистичких серумских вредности за *СК* (*U/L*) по групама у односу на раствор и по временима постоперативног узорковања.

Табела 8. Упоредњење Студентовим т-тестом за независне групе. Анализа СК по групама.

Групе у односу на раствор		p		
I група	II група	СК6h	СК18h	СК42h
ХФР	ХАК	0.51	0.275	0.309
ХФР	СЗП	0.873	0.916	0.693
ХФР	ХТК	0.051	0.412	0.554
ХАК	СЗП	0.602	0.319	0.255
ХАК	ХТК	0.106	0.625	0.535
СЗП	ХТК	0.059	0.5	0.429

ХФР – хепаринизовани 0.9% NaCl физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол)

Такође, употребом Студентовог т-теста за независне групе, није утврђена статистички значајна разлика између серумских вредности СК (U/L) са протоком постоперативног времена, а зависношћу у односу на полну припадност (Табела 9), као ни за постојање дијабетеса код пацијената (Табела 10).

Табела 9. Упоредњење Студентовим т-тестом за независне групе. Анализа СК по полу.

СК у односу на пол		p		
I група	II група	СК6h	СК18h	СК42h
М	Ж	0.432	0.793	0.419

Табела 10. Упоредњење Студентовим т-тестом за независне групе. Анализа СК по присуству дијабета.

СК у односу на дијабетес		p		
I група	II група	СК6h	СК18h	СК42h
Да	Не	0.183	0.247	0.264

Употребом дескриптивно-статистичке анализе запажен је привремени пораст просечних вредности серумског нивоа СКМВ (U/L) (у мерењу на 18. час), пре њиховог пада (при мерењу у 42. часу) код пацијената са протоком времена у постоперативном

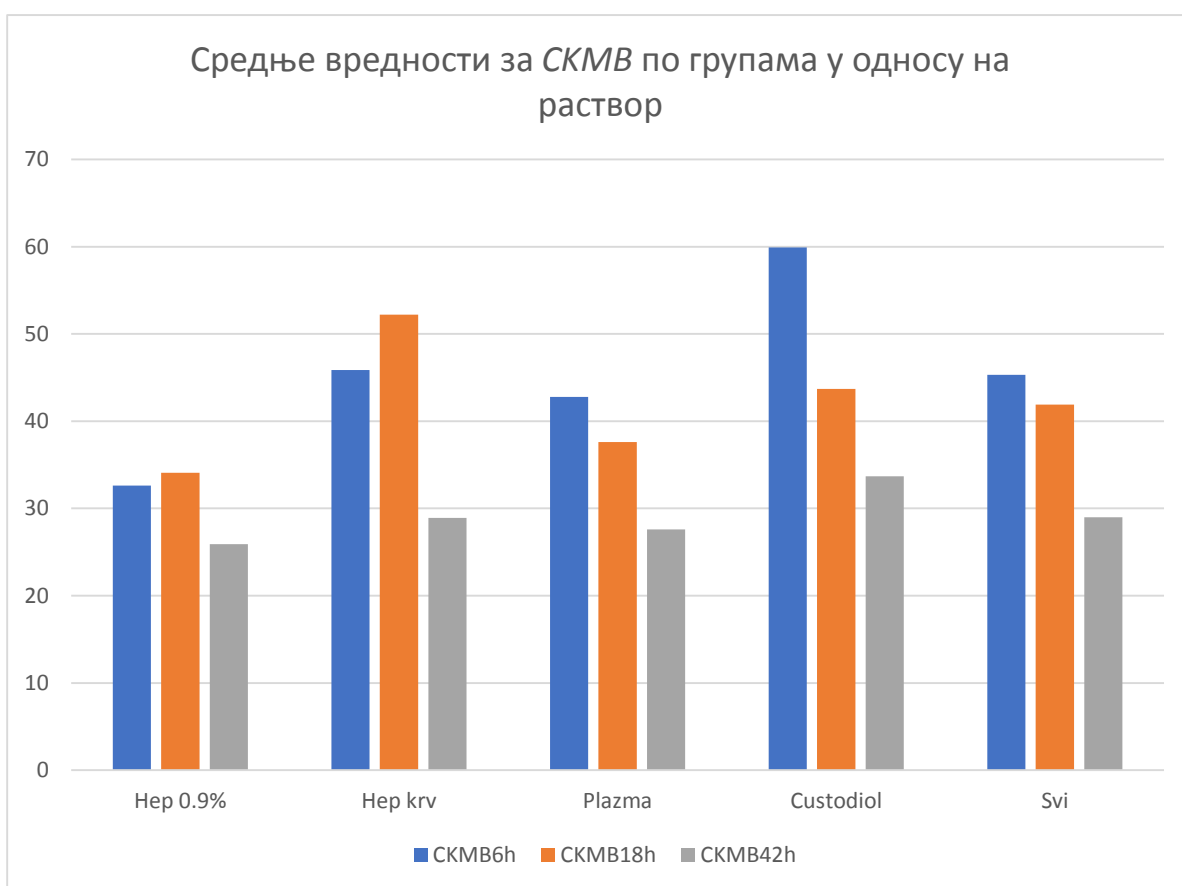
току, у групама хепаринизованог физиолошког раствора и раствора хепаринизоване аутологне крви, у којима су аутовенски графтови великих сафенских вена били интраоперативно складиштени, док су у групама свеже замрзнуте плазме и раствора по Бретшнајдеру, серумске вредности *СК (U/L)*, показале постепени пад са протоком времена (Табела 11, Графикон 3), међутим, није нађена статистички значајна разлика између група по споменутом параметру (Табела 12).

Табела 11. Табеларни приказ статистичких вредности за *СКМВ* по групама у односу на раствор.

	Раствор	N	Avr	SD	Min	Max
<i>СКМВ6h</i>	Хепаринизирани физиолошки раствор (0.9% NaCl)	10	32.64	20.1	15	76
	Хепаринизирана аутологна крв	10	45.87	28.4	18	109
	Свеже замрзнута плазма	10	42.8	24.7	17	99
	Раствор ХТК	10	59.9	17.8	17	99
	Сви	40	45.3025	42.3	15	268
<i>СКМВ18h</i>	Хепаринизирани физиолошки раствор (0.9% NaCl)	10	34.1	9.56	13.7	46.4
	Хепаринизирана аутологна крв	10	52.2	34.3	19	122
	Свеже замрзнута плазма	10	37.6	25	13	91
	Раствор ХТК	10	43.7	16.4	13	91
	Сви	40	41.9	32	13	179
	Хепаринизирани физиолошки	10	25.9	8.25	13	43

<i>СКМВ42h</i>	раствор (0.9% <i>NaCl</i>)					
	Хепаринизирана аутологна крв	10	28.9	23.52	10	90
	Свеже замрзнута плазма	10	27.6	12.84	13	54
	Раствор ХТК	10	33.7	8.89	13	54
	Сви	40	29	16.05	10	90

вредности *СКМВ* су изражене у *UIL*



Графикон 3. Графички приказ просечних статистичких серумских вредности за *СКМВ* (*UIL*) по групама у односу на раствор и по временима постоперативног узорковања.

Табела 12. Упоредње Студентовим т-тестом за независне групе. Анализа *СКМВ (U/L)* по групама.

Групе у односу на раствор		P		
I група	II група	<i>СКМВ6h</i>	<i>СКМВ18h</i>	<i>СКМВ42h</i>
ХФР	ХАК	0.245	0.126	0.706
ХФР	СЗП	0.327	0.683	0.723
ХФР	ХТК	0.277	0.545	0.208
ХАК	СЗП	0.799	0.296	0.88
ХАК	ХТК	0.583	0.657	0.608
СЗП	ХТК	0.498	0.727	0.379

ХФР – хепаринизовани 0.9% *NaCl* физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол)

Употребом Студентовог т-теста за независне групе, није утврђена статистички значајна разлика између серумских вредности *СКМВ (U/L)* са протоком постоперативног времена, а зависношћу у односу на полну припадност (Табела 13), као ни за постојање дијабетеса код пацијената (Табела 14).

Табела 13. Упоредње Студентовим т-тестом за независне групе. Анализа *СКМВ (U/L)* по полу.

<i>СКМВ</i> у односу на пол		p		
I група	II група	<i>СКМВ6h</i>	<i>СКМВ18h</i>	<i>СКМВ42h</i>
М	Ж	0.263	0.393	0.725

Табела 14. Упоредње Студентовим т-тестом за независне групе. Анализа *СКМВ* по присуству дијабетеса.

<i>СКМВ</i> у односу на дијабетес		p		
I група	II група	<i>СКМВ6h</i>	<i>СКМВ18h</i>	<i>СКМВ42h</i>
Да	Не	0.241	0.058	0.218

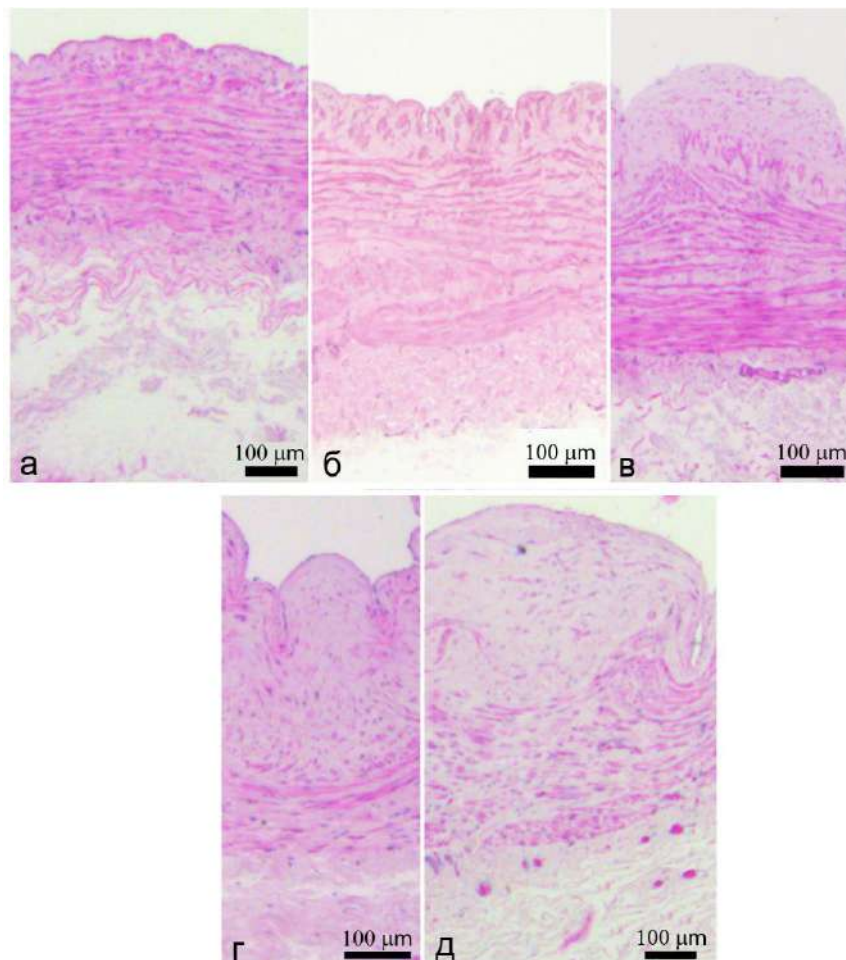
Поређење група применом Студентовог т-теста за упарене групе извршена су упоређења резултата за исту групу, добијених у две различите ситуације, а поређени су резултати за *TnI* (*ng/ml*), *СК* (*U/L*) и *СКМВ* (*U/L*) добијени после 6, 18 и 42 часа (Табеле 2, 7 и 11) независно од утицаја раствора за складиштење, чиме је у скоро у свим случајевима добијена статистички значајна разлика осим за *TnI* и *СКМВ* код поређења група након 6 и 18 сати (Табела 15).

Табела 15. Унутаргрупно поређење применом Студентовог т-теста за упарене групе, за вредности параметара *TnI*, *СК* и *СКМВ* добијених на 6., 18. и 42. час постоперативно (*n*=40).

Групе у односу на време мерења		p		
I група	II група	<i>TnI</i>	<i>СК</i>	<i>СКМВ</i>
6h	18h	0.123	0.003 *	0.396
6h	42h	0.037 *	0.014 *	0.003 *
18h	42h	0.041 *	0.025 *	0.000 *

СВЕТЛОСНО-МИКРОСКОПСКА АНАЛИЗА УЗОРАКА ВЕЛИКИХ САФЕНСКИХ ВЕНА ХИСТОХЕМИЈСКИ ОБОЈЕНИХ ХЕМАТОКСИЛИН-ЕОЗИНОМ И МОДИФИКОВАНОМ МОВАТОВОМ ПЕНТАХРОМСКОМ МЕТОДОМ

Цела група узорака ($n=200$), када се анализира под светлосним микроскопом, показује значајну варијабилност у свим посматраним морфолошким карактеристикама. Ове карактеристике укључују ширину лумена, укупну дебљину зида, дебљину појединих компонената зида као што су интима, медија и адвентиција, присуство и организацију глатког мишићног ткива у различитим деловима зида вене, као и дегенеративне промене у ткивним структурама зида вена, по типу фибропластичне измене тунике интима или флебосклерозе остатака зида вена (Слика 2).

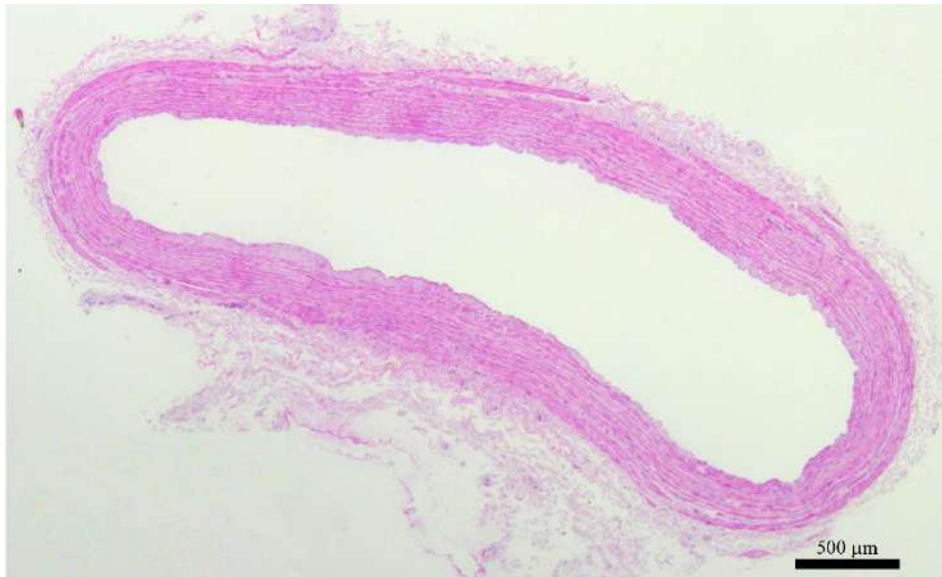


Слика 2. Приказ грађе зида код различитих хисто-фенотипова великих вена сафена. а) вена конвенционално нормалне грађе, б) тип тунике интима са хиперплазијом глаткомишићних ћелија, в) фиброплазија тунике интима, фибропластична туника интима без флебосклерозе, д) фиброплазија тунике интима са флебосклерозом. (ХЕ, $\times 100$)

Комбинације споменутих морфолошких показатеља, као и њихових квантитативно-квалитативних особина, дају велику разноликост морфологији узорака великих сафенских вена, што свакој од њих практично даје јединствену структуру.

Велики број узорака великих сафенских вена показује извесни степен асиметрије у степену развијености појединачних делова зида вене (тунике интима са унутрашњим уздужним глаткомишићним подслојем, циркуларним подслојем тунике медије и спољашњег уздужног глаткомишићног подслоја зида вене.

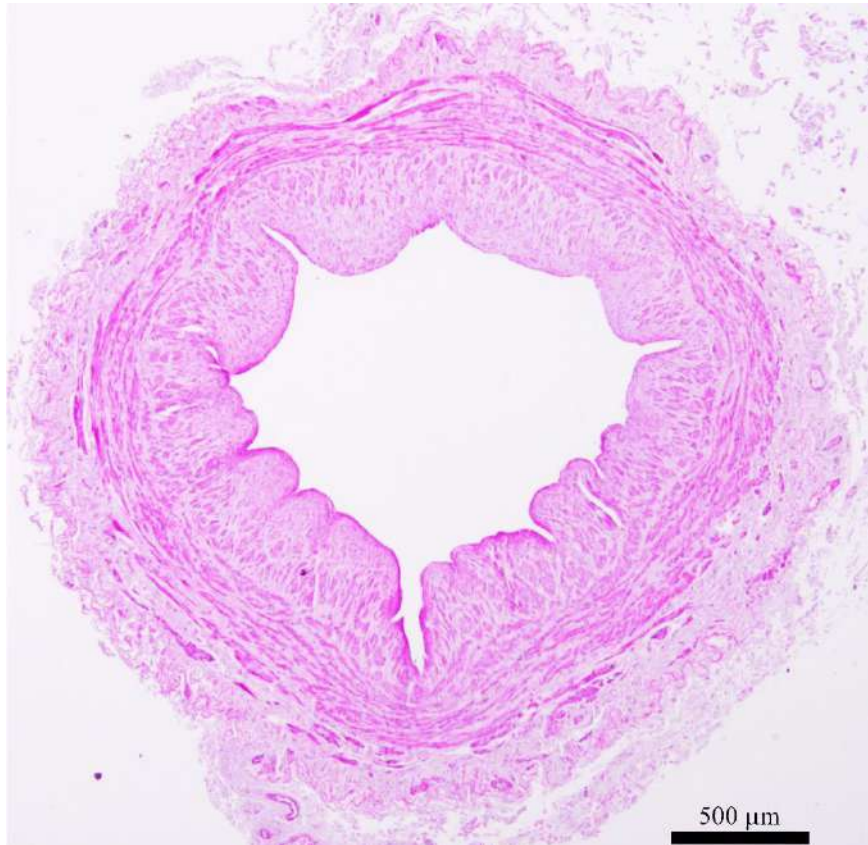
Код четрдесет узорака (40/200 узорака), примећује се структура која је конвенционално нормална. Унутарњи слој, познат као интима вене, има уску дебљину и садржи мало субендотелног везивног ткива. Дебљина је равномерна, без знакова хиперплазије, фиброплазије и флебосклерозе. Овде се могу приметити ретке појединачне глатке мишићне ћелије, а понекад и танке снопове, које су оријентисане уздужно Слика (2а) Унутарњи слој медије, слоја који долази после интима, састоји се од снопова глатког мишићног ткива који су углавном компактно распоређени. Близу интима, овај слој је ограничен једноставном, правилно распоређеном, унутрашњом еластичном мембраном која има валовит изглед. Периферно од циркуларног слоја медије, постоји вишеслојна спољашња еластична мембрана која се састоји од неколико дискретних еластичних ламела распоређених концентрично. У овом хистолошком фенотипу, спољашњи слој има уздужну структуру и састоји се од ретких појединачних снопова глатког мишићног ткива. Ови снопови су ужег профила и пролазе уздужно, смештени су или унутар подручја спољашње еластичне мембране или непосредно уз њу. Ово се дешава у односу на везивно ткиво адвентиције ових крвних судова. Код појединих вена, спољашњи лонгитудинални подслој тунике медије је слабо развијен, понекад до тачке да није приметан (Слика 3).



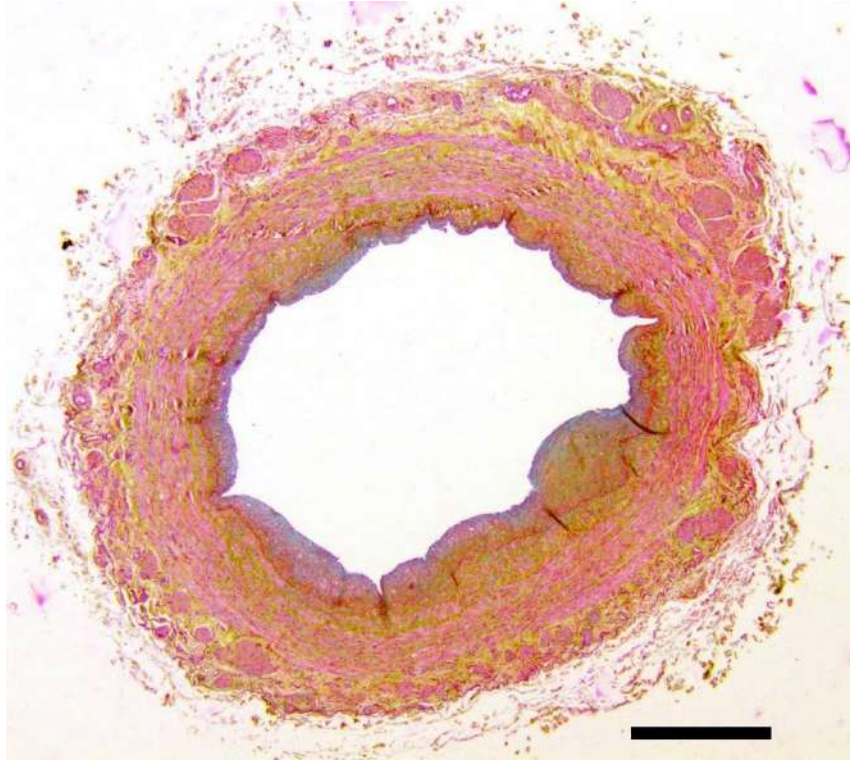
Слика 3. Хисто-фенотип 1, конвенционално нормални фенотип светлосно-микроскопског изгледа велике сафенске вене. (ХЕ, x40 панорама, микрофотографски размерник 500 микрометара)

Једна од група испитиваних узорака вена (50/200 узорака) карактерише се хиперпластичном интимом, без присуства фиброплазије и флебосклерозе (Слика 4). Хиперплазија интима се базира на повећању њених субендотелних компонената, са доминантним повећањем броја глаткомишићних ћелија с лонгитудиналном оријентацијом, уз мање присуство субендотелног екстрацелуларног матрикса (Слика 2б Слика 5). Глатке мишићне ћелије у овом подручју се могу јављати како појединачно, тако и груписане у уске снопове. Унутарња еластична мембрана се понекад може препознати као раздвојена и дисконтинуирана. Она се састоји од ламела различите дебљине и смештена је између и око глаткомишићних ћелија (Слика 6). Циркуларни слој тунике медије у неким случајевима има сличну морфологију као код претходне групе, док у ређим случајевима може бити значајно проширен, с повећаним бројем слојева који су одвојени екстрацелуларним матриксом. Тај матрикс је сачињен од колагенских влакана везивног ткива и алтернира у оријентацији са сноповима глатког мишићног ткива. Периферно од циркуларног слоја медије, уочљива је вишеслојна спољашња еластична мембрана која се састоји од неколико дискретних еластичних ламела распоређених концентрично. Спољашњи лонгитудинални подслој веће је развијености и може бити од крупнијих и бројнијих снопова глатког мишићног ткива. Ови снопови ширег профила профила и уздужне оријентације, смештени су или унутар подручја спољашње еластичне мембране, чије ламеле се простиру између снопова унутар помесног фибро-еластичног везивног ткива. (Слика 7). Периферније, налази се фиброзно

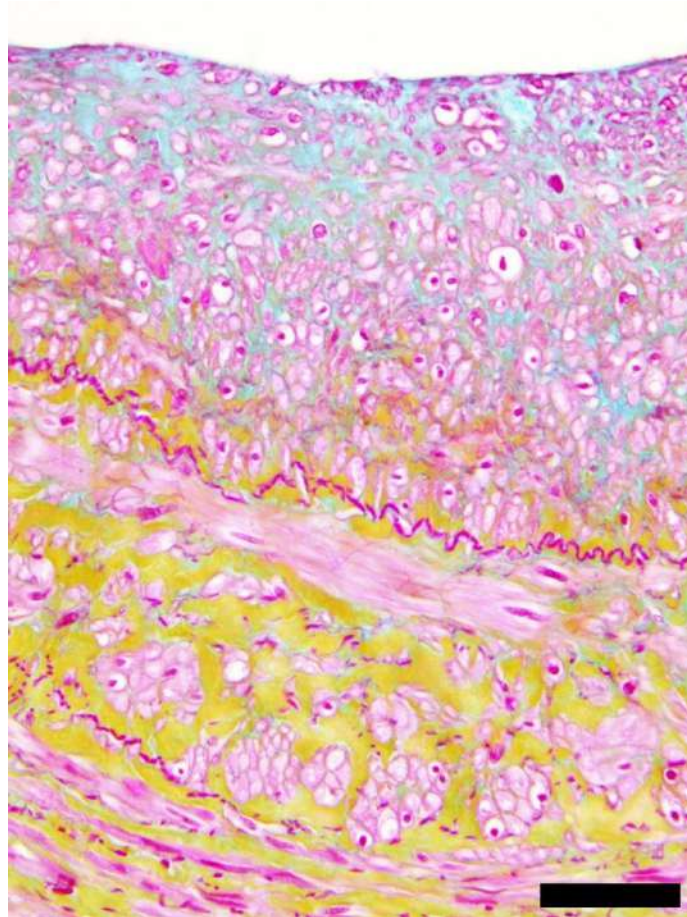
везивно ткиво адвентиције са својим *vasa vasorum* и растреситијег изгледа, околно ткиво добијено дисекционим процесом.



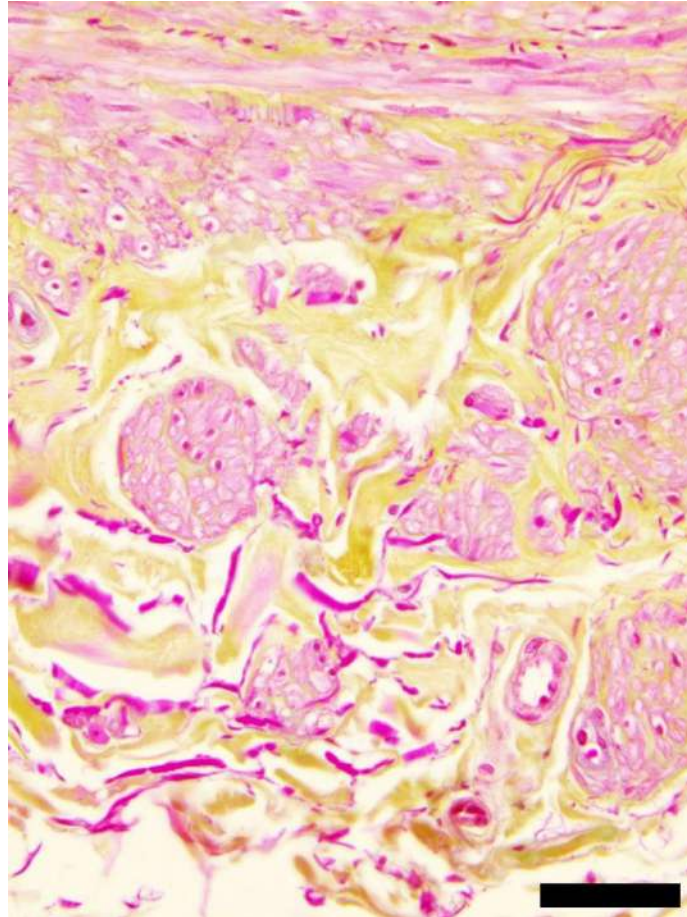
Слика 4. Хисто-фенотип 2, попречни пресек велике сафенске вене са релативно уједначеном хиперплазијом тунике интима велике сафенске вене, без фиброплазије, са хиперплазијом глаткомишићног ткива тунике интима (унутрашњи уздужни глаткомишићни подслој. Туника интима хиперпластичног изгледа у целини, показује значајно присуство, субендотелног везивног ткива, правилне организације, али и значајну заступљеност хиперпластичне глаткомишићне компоненте. (ХЕ, x40 панорама, микрофотографски размерник 500 микрометара)



Слика 5. Попречни пресек велике сафенске вене са асиметричном дебљином тунике интимае услед парцијалне фиброплазије са хиперплазијом глаткомишићних ћелија, добро развијеним циркуларним подслојем тунике медије, као и спољашњег уздужног мишићног подслоја. Мишићне компоненте су црвене обојености (киселим фуксином), колагена влакна су жуте обојености (алкохолни шафран), а нарочито у подручју тунике интимае истиче се гликозаминогликанска компонента субендотелног везивног ткива својом тиркизно-плавом обојеношћу (алцијан плаво). (Модификована Моватова пентахромска метода, x40 панорама, микрофотографски размерник 500 микрометара)



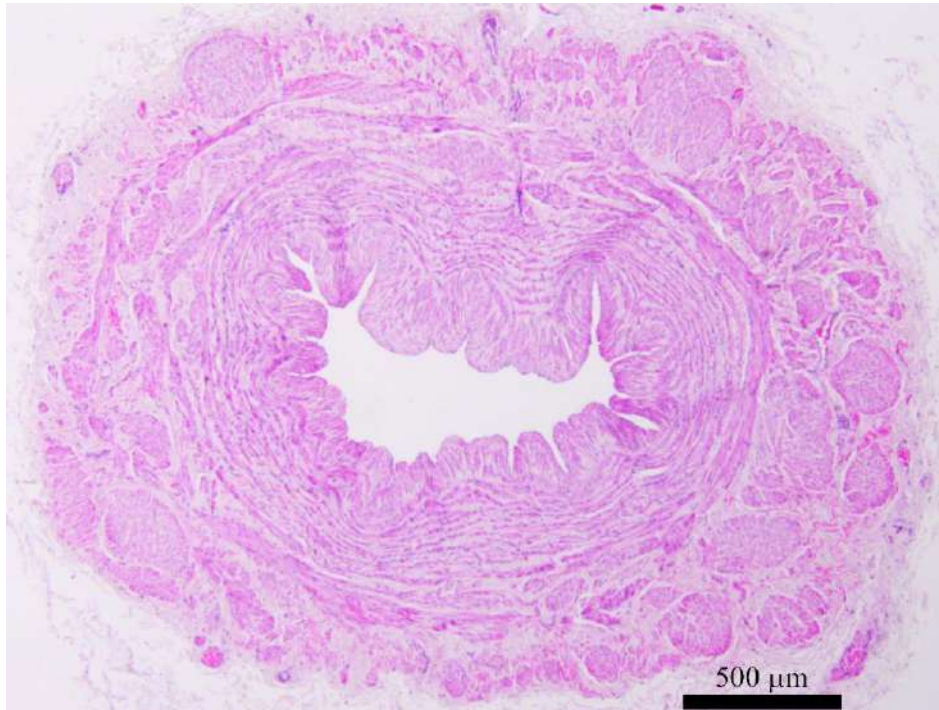
Слика 6. Попречни пресек велике сафенске вене са парцијалном фиброплазијом тунике интими и хиперплазијом глаткомишићних ћелија. У туниси интими се запажају попречни пресеци профили глаткомишићних ћелија, унутрашњег лонгитудиналног мишићног подслоја, црвене обојености (киселим фуксином), док је гликозаминогликанска компонента субендотелног везивног ткива уочљива по својој тиркизно-плавој обојености (алцијан плаво). На граници тунике интими и циркуларног подслоја тунике медије, запажа се унутрашња еластична мембрана пурпурне обојености (алдехид-фуксин), док су колагена влакна, присутна између уздужно пресечених профила глаткомишићних ћелија медије, жуте обојености (алкохолни шафран). (Модификована Моватова пентахромска метода, x400 панорама, микрофотографски размерник 50 микрометара)



Слика 7. Део периферије попречног пресека велике сафенске вене. Попречно пресечени снопови уздужног мишићног подслоја, црвене обојености (киселим фуксином), запажају се унутар фибро-еластичног везивног ткива према адвентицији. Између споменутих глаткомишићних снопова су уочљиве ламеле спољашње еластичне мембране, пурпурне обојености (алдехид-фуксин), док су колагена влакна, жуте обојености (алкохолни шафран). (Модификована Моватова пентахромска метода, x400 панорама, микрофотографски размерник 50 микрометара)

У петини од узорка великих сафенских вена које су биле предмет истраживања, примећује се изражена развијеност спољног лонгитудиналног слоја медије, са многобројним сноповима глатког мишићног ткива распоређеним у релативно густој конфигурацији. Ови снопови се истичу својом великом ширином и могу бити 5-10 пута дебљи у поређењу са сноповима лонгитудиналног слоја у другим деловима узорка вена (Слика 8). Важно је напоменути да се ова значајна развијеност спољног лонгитудиналног слоја медије углавном примећује код вена чија интима показује хиперплазију глатког мишићног ткива. Код пет случајева, циркуларни слој медије је показао присуство до пет

слојева глатког мишићног ткива (у регији између унутрашње и спољне еластичне мембране), са променљивом оријентацијом (кружном и тангенцијалном) и раздвојеностима екстрацелуларним матриксом. Унутар спољне еластичне мембране, често се примећује присуство широкх снопова спољног лонгитудиналног слоја тунике медије (Слика 8).



Слика 8. Попречни пресек велике вене сафене, са хиперпластично развијеним глаткомишићним ткивом тунике интима (без фиброплазије) у коме се такође види изразита развијеност спољашњег уздужног подслоја тунике медије. (ХЕ, х40 панорама, микрофотографски размерник 500 микрометара)

Седамдесет од две стотине узорака вена (70/200 узорака) карактерише присуство фиброплазије у интими, али без флебосклерозе. Фиброплазија је резултат премоћног субендотелног екстрацелуларног матрикса у поређењу са смањеним бројем глатких мишићних ћелија, у поређењу са стањем које се уочава код хиперплазије интима (Слике 9 и 2в).

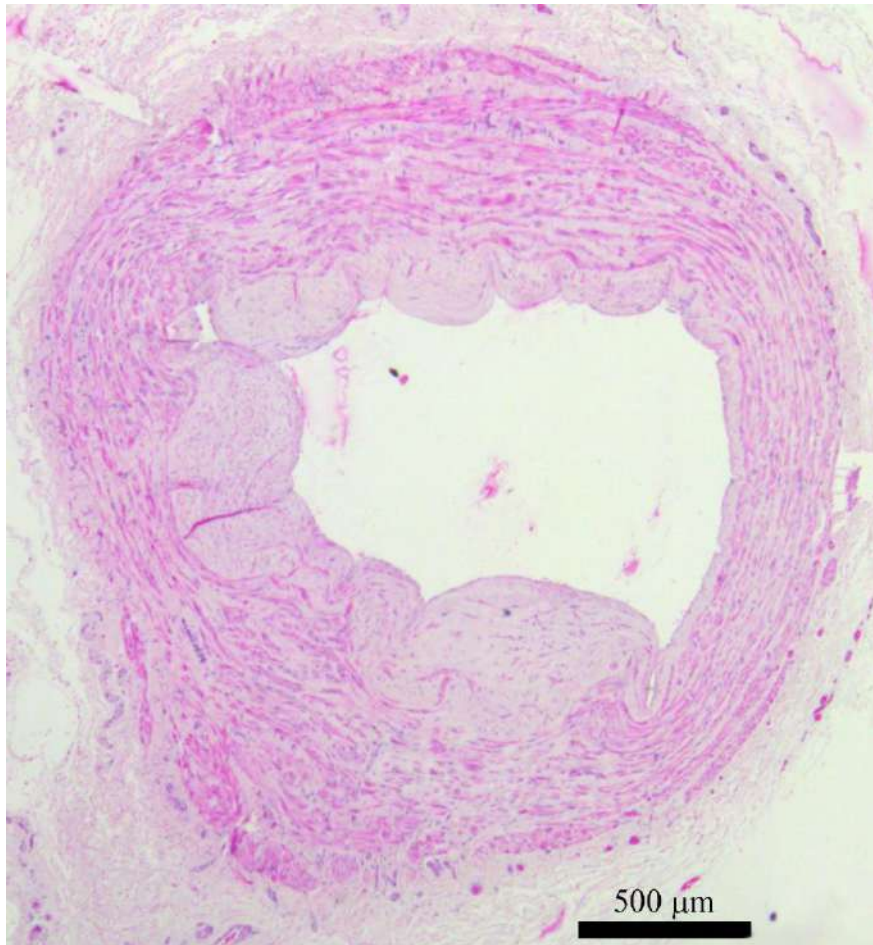
Када је присутна, интима промењена фиброплазијом може бити изразито развијена и равномерно покривати целу обим лумена у неким узорцима, док у другим случајевима може бити локално присутна без јасног обрасца или се може појавити у облику малих интималних јастучића. У осталим деловима узорака вена, дебљина интима

се смањује и враћа се у оквире очекиване нормалности, са присутним уским субендотелним везивним ткивом.



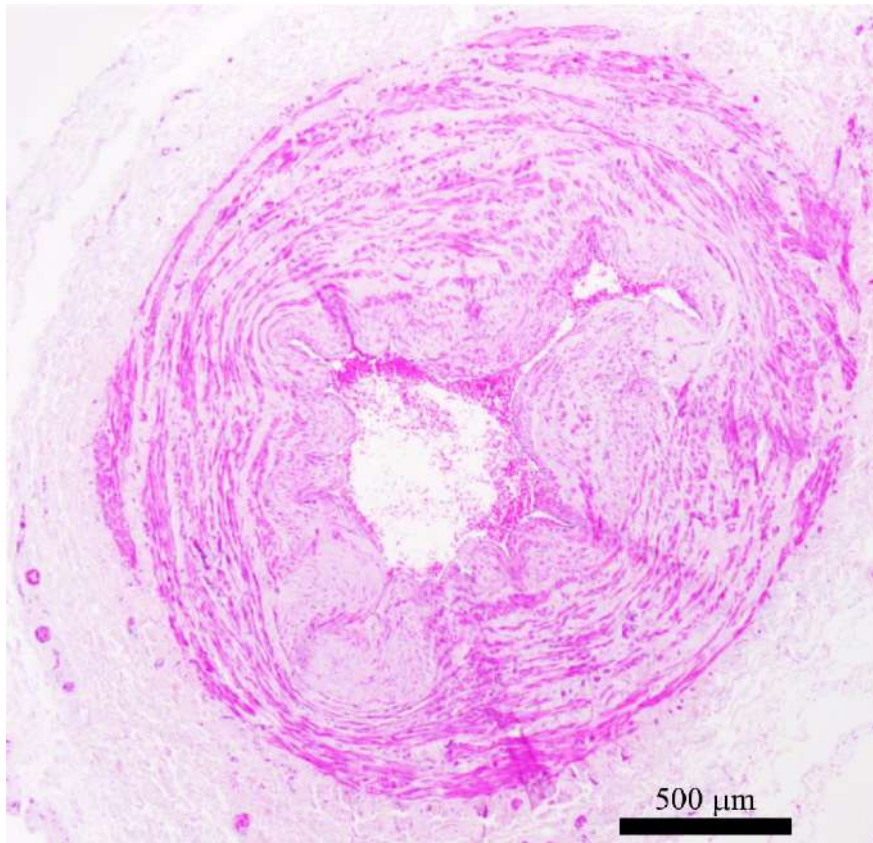
Слика 9. Хисто-фенотип 3 – фиброплазија тунике интима велике сафенске вене без флебосклерозе. Попречни пресек велике сафенске вене са хиперплазијом и фиброплазијом тунике интима. Туника интима има, ексцентричне дистрибуције, упадљиву развијеност у односу на остале слојеве зида вене. Туника интима хиперпластичног изгледа у целини, показује значајну фиброплазију субендотелног везивног ткива, са значајном редукцијом глаткомишићне компоненте. (ХЕ, x40 панорама, микрофотографски размерник 500 микрометара)

У двадесет од две стотине узорка сафенских вена (20/200 узорка), запажена је фиброплазија интима заједно са парцијалном флебосклерозом. У овим узорцима вена, постоји фокално повећање везивноткивне компоненте у циркуларном слоју медије, уз истовремено значајно смањење броја глатких мишићних ћелија, нерегуларности у њиховом распореду и оштећења тог слоја (Слика 2г). Изгледа да флебосклероза има широку основицу која почива на фиброплазији интима и постепено се сужава према адвентицији (Слика 10).



Слика 10. Хисто-фенотип 4 – фиброплазија тунике интима велике сафенске вене са делимичном флебосклерозом. Фокално се запажа поремећај континуитета циркуларног подслоја тунике медије услед атрофије помесног глаткомишићног ткива, а повећања присуства фиброзног везивног ткива. (ХЕ, $\times 40$ панорама, микрофотографски размерник 500 микрометара)

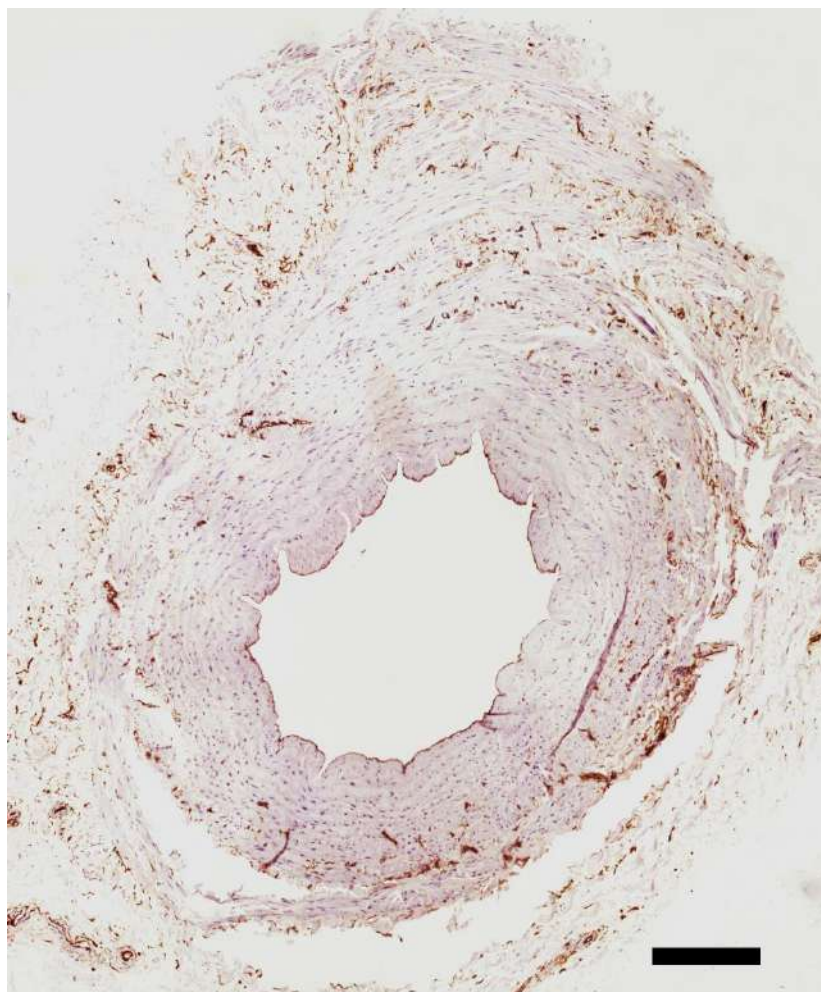
Код двадесет узорка сафенских вена (20/200 узорака), уочена је фиброплазија интима у комбинацији са значајном флебосклерозом. У овој варијанти, граница између фиброплазије интима и обилно присутног екстрацелуларног матрикса између појединачних и атрофичних глаткомишићних ћелија циркуларног слоја медије постаје нејасна. У ствари, на многим местима, екстрацелуларни матрикс се протеже од ендотела до адвентиције крвног суда, често без икаквих прекида (Слике 11 и 2д).



Слика 11. Хисто-фенотип 5 – фиброплазија тунике интима са узрапредовалом флебосклерозом остатка зида. Местимично се запажа раслојавање снопова циркуларног подслоја тунике медије повећањем количине везивног ткива, уз помесну атрофију глаткомишићног ткива. (ХЕ, х40 панорама, микрофотографски размерник 500 микрометара)

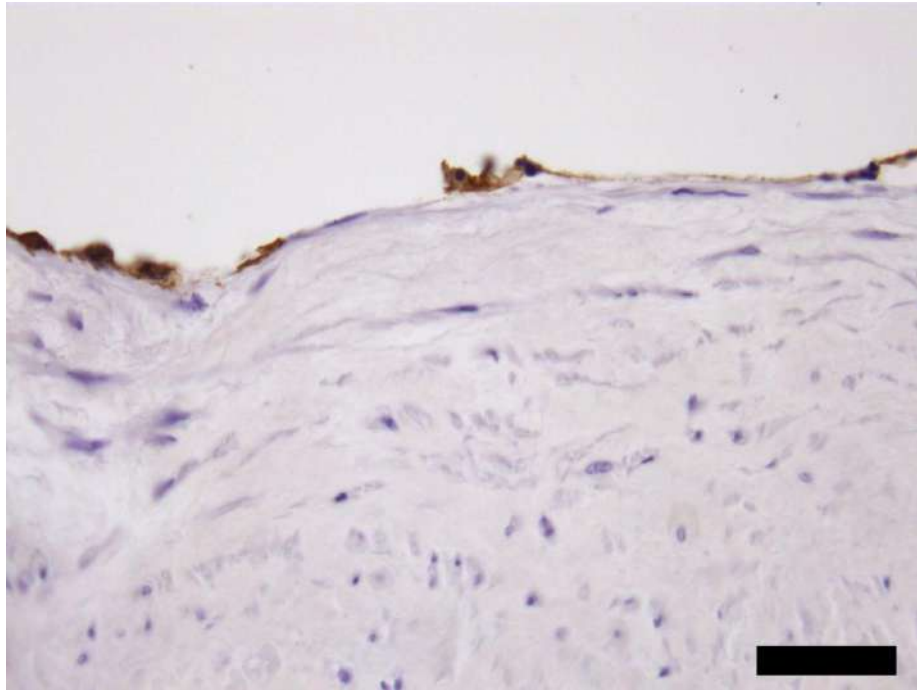
СВЕТЛОСНО-МИКРОСКОПСКА АНАЛИЗА ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКИ ОБЕЛЕЖЕНИХ УЗОРАКА ВЕЛИКИХ САФЕНСКИХ ВЕНА НА АНТИГЕН *CD34*

Узорци великих сафенских вена из све четири испитиване групе, имунохистохемијски маркираних на антиген *CD34*, показали су селективно обележавање ћелија ендотелног обложног епитела својих туника интима, као и ендотела својих *vasa vasorum*. Код оних венских узорака, код којих је због денудације ендотела туника интима испитиваних вена, имунохистохемијско маркирање на антиген *CD34* било ниске процентуалне заступљености, специфичност маркирања увек је била контролисана, на истом узорку, провером маркираности *vasa vasorum* (Слика 12).



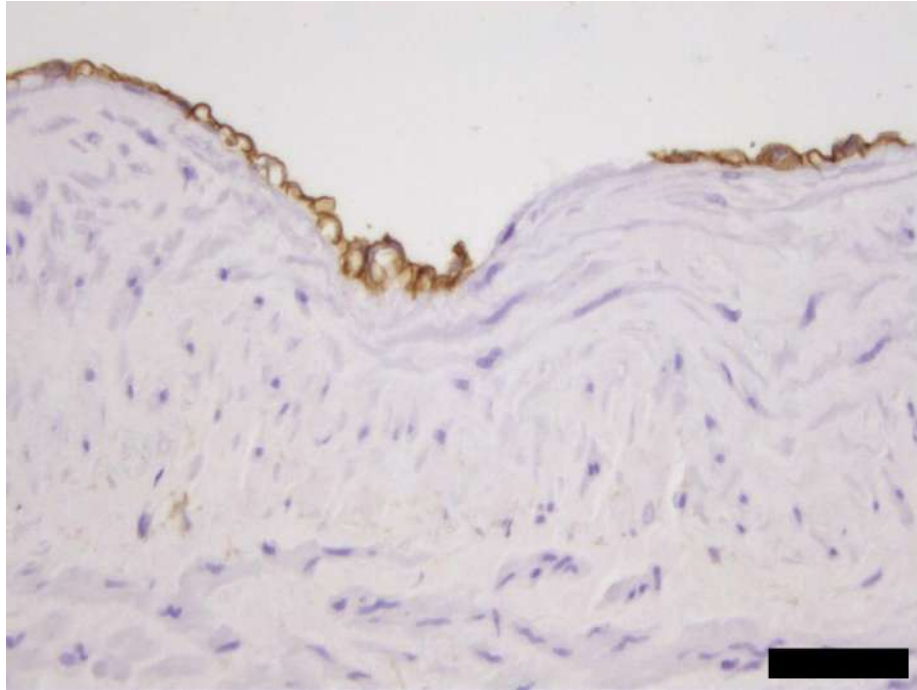
Слика 12. Панорамски приказ попречног пресека сафенске вене третиране *Bretschneider*-овим раствором, без фиброплазије тунике интима. Ендотел тунике интима показује парцијалну денудацију, која је доказана одсуством имунохистохемијске реакције на *CD34*. У деловима тунике интима, где је ендотел одржаног интегритета, јасно је видљива његова имунохистохемијска обележеност на *CD34*. Обратите пажњу да је имунохистохемијска позитивност на *CD34* такође присутна и у ендотелу *vasa vasorum* приказаног узорка велике сафенске вене. (имунохистохемија *CD34*, x100 панорама, микрофотографски размерник 250 микрометара)

Денудираност ендотела се запажа као фокална промена или у сегментима веће дужине ендотелног облога тунике интима великих сафенских вена, у неким случајевима са постепеним прелазом уз констатовање дегенеративних промена у морфологији ендотела, а очувану имунохистохемијску реактивност на *CD34*, а некада је тај прелаз према денудираном пољу тунике интима са ендотелним ћелијама очуване морфологије и реактивности на периферији оштећења (Слика 13).



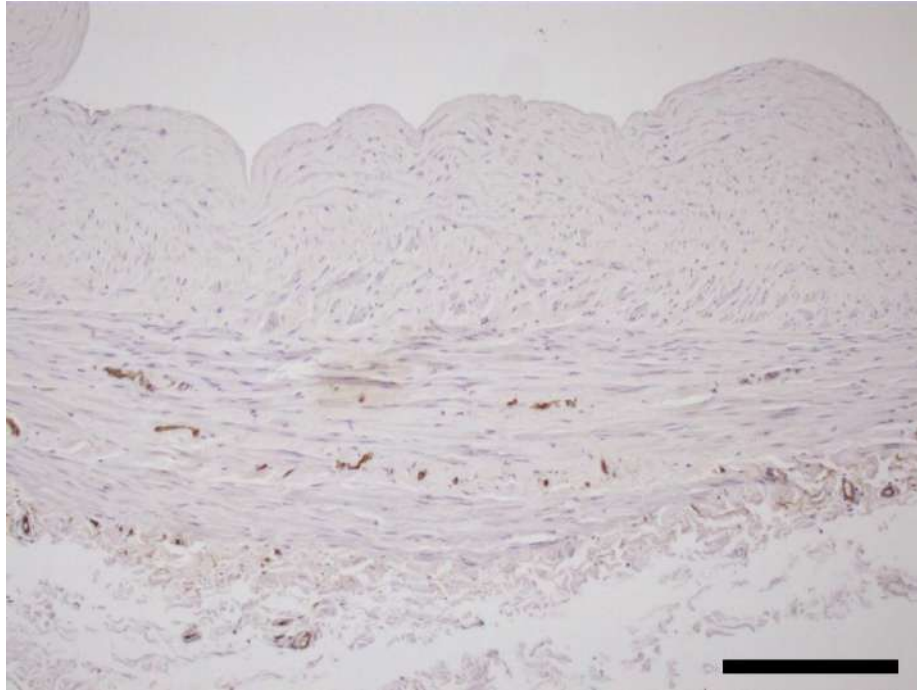
Слика 13. Пример фокалне денудације ендотела тунике интима велике сафенске вене, имунохистохемијски обележене на *CD34*. Лево, *CD34* позитивне ендотелне ћелије, одржане нормалне морфологије. (имунохистохемија *CD34*, $\times 400$, микрофотографски размерник 50 микрометара)

Код неких узорака великих сафенских вена, запајају се дегенеративне промене које остављају утисак „вакуолираности“ ендотела, али је очигледно да ове промене нису интрацелуларна дегенеративна промена, већ губитак адхезије ендотелних ћелија према базалној ламини, будући да се између ћелија и базалне ламине, не запајају структурне компоненте ћелије, имунохистохемијски обележене на антиген *CD34* (Слика 14).

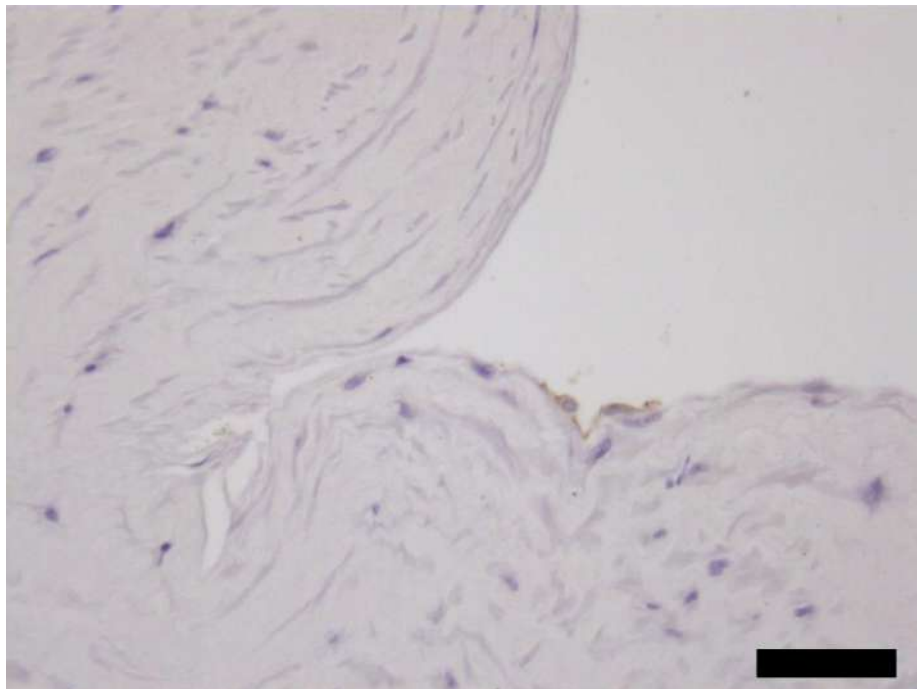


Слика 14. Пример раних дегенеративних промена у *CD34* позитивном ендотелу тунике интима (лево), са фокалном денудацијом ендотела тунике интима (средина). Дегенеративне промене ендотела (лево) показују постепени губитак веза ћелија ендотела са својом базалном ламином, услед чега ендотел има изглед «вакуолизованости». (имунохистохемија *CD34*, $\times 400$, микрофотографски размерник 50 микрометара)

Код узорака великих сафенских вена, код којих су изразите дегенеративне промене у зиду, типа фиброплазије тунике интима или придружене флебосклерозе зида вена, стиче се утисак о већем степену денудираности ендотела кроз одсуство имунохистохемијског обележавања на *CD34* (Слика 15).



Слика 15. Изразита денудираност ендотела фибропластично измењене тунике интима велике сафенске вене. *CD34* позитивни ендотел *vasa vasorum* унутар циркуларног подслсоја тунике медије, као и на његовој спољашњој граници. (имунохистохемија *CD34*, x100, микрофотометарски размерник 250 микрометара)



Слика 16. Детаљ са претходне слике који приказује фрагмент остатка ендотела тунике интима велике сафенске вене имунохистохемијски позитивног ендотела на *CD34*; остатак ендотела тунике интима је одсутан (дезахериран) и тај део тунике интима се презентује као

имунохистохемијски негативна површина на CD34. (имунохистохемија CD34, x400, микрофотометарски размерник 50 микрометара)

МИКРО-МОРФОМЕТРИЈСКА АНАЛИЗА УЗОРАКА ВЕЛИКИХ САФЕНСКИХ ВЕНА ОБЕЛЕЖЕНИХ НА АНТИГЕН CD34

Морфометријска анализа целовитог узорка великих сафенских вена имунохистохемијски обележених на CD34 (без поделе на групе према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење аутографтова)

Микро-морфометријском анализом целокупног корпуса ткивних узорка великих сафенских вена, прикупљених за потребе овог истраживања (n=40), утврђена је просечна вредност великог Феретовог дијаметра за попречне пресеке целовитих вена 2.778 ± 0.656 mm, у распону од 1.654 mm до 4.302 mm, а мањег Феретовог дијаметра од 2.133 ± 0.391 mm, а распона од 1.270 до 3.528 mm (Табела 16). Величине лумена великих сафенских вена узорка, исказане великим Феретовим дијаметром биле су у распону од 0.904 до 3.390 mm, (просечна вредност 1.960 ± 0.637 mm), а мањим Феретовим дијаметром од 0.611 до 2.003 mm. (просечна вредност 1.187 ± 0.327 mm) (Табела 16).

Табела 16. Приказ вредности већег (*Feret*) и мањег (*MinFeret*) Феретовог дијаметра лумена великих сафенских вена, као и вредности већег (*Feret*) и мањег (*MinFeret*) Феретовог дијаметра целовитих вена на попречном пресеку, за све испитиване узорке великих сафенских вена (n=40).

	Лумена		Целовите вене	
	<i>Feret</i>	<i>MinFeret</i>	<i>Feret</i>	<i>MinFeret</i>
$\bar{X} \pm SD$ (mm)	1.960 ± 0.637	1.187 ± 0.327	2.778 ± 0.656	2.133 ± 0.391
Медијана (mm)	1.967	1.168	2.669	2.091
<i>Min</i> (mm)	0.904	0.611	1.654	1.270
<i>Max</i> (mm)	3.390	2.003	4.302	3.528

Feret - Феретов дијаметар; *MinFeret* – минимални Феретов дијаметар.

Просечна вредност површине попречног пресека изучаваних вена износила је $4.641 \pm 1.849 \text{ mm}^2$ (са распоном вредности од 1.597 до 11.266 mm^2), док је просечна вредност површине попречног пресека зида изучаваних вена износила $3.257 \pm 1.302 \text{ mm}^2$ (са распоном вредности од 1.256 до 7.778 mm^2) (Табела 17). Морфометријске особине површине лумена великих сафенских вена, такође показују значајну варијабилност у распону од 0.194 до 3.487 mm^2 (са просечном вредношћу од $1.384 \pm 0.827 \text{ mm}^2$). Изражено у процентима, површина лумена вена заузима нешто мање од трећине профила целог крвног суда (са просечном вредношћу од $28.83 \pm 11.93\%$) и распоном вредности од 5.77 до 58.29% (Табела 17).

Табела 17. Резултати дескриптивне статистичке анализе површина пресека (*Area*) свих узорака великих сафенских вена подвргнутих истраживању ($n=40$), са освртом на вредности површине лумена, процентуалног удела површине лумена (*Area%*) у структури попречног пресека целог суда, као и површине зида сафенске вене на пресеку.

	Лумен		Попречног пресека целог суда		Зида вене
	<i>Area</i> (mm^2)	<i>Area</i> (%)	<i>Area</i> (mm^2)	<i>Area</i> (mm^2)	
$\bar{X} \pm SD$	1.384 ± 0.827	28.83 ± 11.93	4.641 ± 1.849	3.257 ± 1.302	
Медијана	1.175	26.74	4.190	3.047	
<i>min</i>	0.194	5.77	1.597	1.256	
<i>max</i>	3.487	58.29	11.266	7.778	

Area Lum – површина лумена; *Area%Lum* – површина лумена изражена; *Area CeoSud* – површина пресека целе сафенске вене; *Area CeoZid* - површина целог зида сафенске вене;

При анализи површина пресека (*Area*) појединачних делова зида великих сафенских вена ($n=40$), запажа се да је просечна вредност најмања за спољашњи лонгитудинални мишићни подслој (*SpLonXor*), а највећа за циркуларни подслој тунике медије (*CirkXor*) (Табела 18).

Табела 18. Приказ просечних вредности површина појединачних компоненти зида на попречном пресеку великих сафенских вена ($n=40$).

	<i>Area</i>			
	<i>IntXor</i>	<i>CirkXor</i>	<i>SpLonXor</i>	Цео зид
$\bar{X} \pm SD$ (mm^2)	0.948 ± 0.645	1.548 ± 0.533	0.761 ± 0.691	3.257 ± 1.302
Медијана (mm^2)	0.798	1.524	0.446	3.047
<i>Min</i> (mm^2)	0.174	0.601	0.192	1.256
<i>Max</i> (mm^2)	2.651	3.542	3.714	7.778

AreaIntXor – површина тунике интима; *AreaCirkXor* – површина циркуларног подслоја тунике медије; *AreaSpLonXor* – површина лонгитудиналног мишићног подслоја

Овај однос се огледа и у процентуалним односима површина појединачних делова зида великих сафенских вена (*Area%*), имајући редослед вредности од најмањих код спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја (*SpLonXor*, $21.856 \pm 12.162\%$), затим код тунике интима са унутрашњим лонгитудиналним мишићним подслојем (*IntXor*, $27.791 \pm 12.359\%$) и највећих код циркуларног подслоја тунике медије (*CirkXor*, $50.334 \pm 13.645\%$) (Табела 19).

Табела 19. Приказ просечних вредности процентуалног удела површина појединачних делова зида великих сафенских вена у површини зида целог суда на попречном пресеку, за све испитиване узорке великих сафенских вена ($n=40$).

	<i>Area%</i>		
	<i>IntXor</i>	<i>CirkXor</i>	<i>SpLonXor</i>
$\bar{X} \pm SD$ (%)	27.791 ± 12.359	50.334 ± 13.645	21.856 ± 12.162
Медијана (%)	25.997	47.083	17.263
<i>Min</i> (%)	6.71	18.79	6.97
<i>Max</i> (%)	53.58	75.93	47.75

Area% IntXor – удео површине тунике интима изражен у процентима; *Area% CirkXor* – удео површине циркуларног подслоја тунике медије изражен у процентима; *Area% SpLonXor* – удео површине спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја

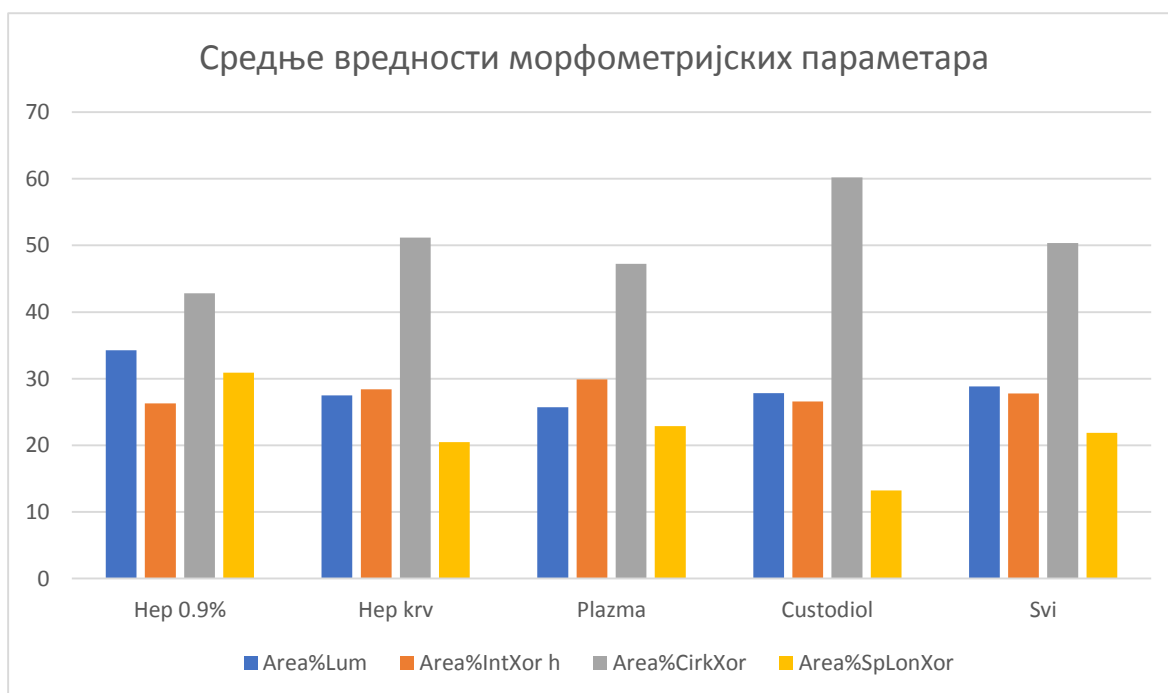
Вредности процентуалног удела површине лумена (*Area%Lum*), површине тунике интерне (*Area%IntXor*), површине циркуларног подслоја медије (*Area%CirkXor*) и спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја (*Area%SpLonXor*) нису показале статистички значајне разлике у односу на групу раствора у којој су узорци ткива великих сафенских били складиштени. (Табела 20).

Табела 20. Табеларни приказ статистичких вредности за морфолошке параметере.

	Раствор	N	Avr	SD	Min	Max
<i>Area%Lum</i>	Хепаринизирани раствор 0.9% <i>NaCl</i>	10	34.27	10.90	19.55	58.29
	Хепаринизирана аутологна крв	10	27.51	15.74	5.77	55.14
	Свеже замрзнута плазма	10	25.73	9.86	17.58	52.16
	Раствор ХТК	10	27.82	10.31	11.33	45.84
	Сви	40	28.83	11.93	5.77	58.29
<i>Area%IntXor</i>	Хепаринизирани раствор 0.9% <i>NaCl</i>	10	26.30	11.88	6.71	40.50
	Хепаринизирана аутологна крв	10	28.38	14.06	10.02	48.39
	Свеже замрзнута плазма	10	29.91	13.43	12.85	53.58
	Раствор ХТК	10	26.58	11.53	11.64	47.26
	Сви	40	27.79	12.36	6.71	53.58
<i>Area%CirkXor</i>	Хепаринизирани раствор 0.9% <i>NaCl</i>	10	42.79	15.69	18.79	70.17
	Хепаринизирана аутологна крв	10	51.16	11.13	39.29	69.33

	Свеже замрзнута плазма	10	47.22	12.31	32.53	74.76
	Раствор ХТК	10	60.20	10.11	44.76	75.93
	Сви	40	50.34	13.64	18.80	75.93
<i>Area%SpLonXor</i>	Хепаринизирани раствор 0.9% NaCl	10	30.91	12.93	12.5	47.75
	Хепаринизирана аутологна крв	10	20.47	11.34	8.31	45.73
	Свеже замрзнута плазма	10	22.87	12.67	6.97	41.74
	Раствор ХТК	10	13.22	2.75	7.98	18.42
	Сви	40	21.87	12.16	6.97	47.75

Area% IntXor – процентуални удео површине тунике интерне у површини зида вене; *Area% CirkXor* – процентуални удео површине циркуларног подслоја тунике медије изражен у површини зида вене; *Area% SpLonXor* – процентуални удео површине лонгитудиналног подслоја тунике медије у површини зида вене;



Графикон 4. Приказ средњих вредности процентуалног удела површине лумена у површини попречног пресека сваке велике сафенске вене (*Area%Lum*), као и процентуални удео површине сваког слоја према укупној површини зида вене (*Area%IntXor*, *Area%CirkXor*, *Area%SpLonXor*).

Обим контуре лумена великих сафенских вена, за цео узорак ($n=40$), без обзира на коришћени раствор, показао је распон вредности од 3.352 до 9.793 mm , док је обим спољашњег обода ових крвних судова показао распон вредности од 4.918 до 12.564 mm . (Табела 21).

Табела 21. Вредности обима лумена и спољашњег обода великих сафенских вена ($n=40$).

	Обим	
	Лумен	Цео суд
$\bar{X} \pm SD (mm)$	6.467 \pm 1.662	7.897 \pm 1.589
Медијана (mm)	6.553	7.754
<i>Min</i> (mm)	3.352	4.918
<i>Max</i> (mm)	9.793	12.564

Дебљина зида великих сафенских вена, израчуната преко просечних Феретових дијаметра за цео узорак ($n=40$), показала је распон вредности од 0.190 до 0.669 mm , што је око 3,5 пута разлика у вредностима од најмање до највеће. Такође, најмање просечне вредности споменуте варијабле су забележене за спољашњи лонгитудинални мишићни подслој (*SpLonXor*), затим тунику интиму са унутрашњим лонгитудиналним подслојем (*IntXor*) и готово двоструко већим вредностима за циркуларни подслој тунике медије (*CirkXor*). Вредности дебљине делова зида сафенских вена, за све испитанике ($n=40$), кретале су се од 0.016-0.262 mm за подслој тунике интерне (*IntXor*), од 0.069-0.487 mm за циркуларни подслој медије (*CirkXor*) и од 0.025-0.293 mm за спољашњи лонгитудинални мишићни подслој (*SpLonXor*), што је шеснаестострука разлика између најмањих (*min*) и највећих (*max*) вредности у групи за тунику интиму (*IntXor*), једанестострука у групи спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја (*SpLonXor*) и седмострука за циркуларни подслој тунике медије (*CirkXor*) (Табела 22).

Табела 22. Дебљине зида великих сафенских вена и његових појединачних делова ($n=40$).

	дебљина слоја	дебљина слоја	дебљина слоја	дебљина
	<i>IntXor</i>	<i>CirkXor</i>	<i>SpLonXor</i>	зида вене
$\bar{X} \pm SD$ (mm)	0.112 ± 0.066	0.228 ± 0.070	0.100 ± 0.073	0.441 ± 0.108
Медијана (mm)	0.104	0.227	0.066	0.402
Min (mm)	0.016	0.069	0.025	0.190
Max (mm)	0.262	0.487	0.293	0.669

дебљина слоја *IntXorAve* - тунике интима; дебљина слоја *CirkXorAve* - циркуларног слоја тунике медије; дебљина слоја *SpLonXorAve* – спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја.

Морфометријска анализа узорака великих сафенских вена имунохистохемијски обележених на *CD34* и подељених у групе према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење аутовенских графтова

Дескриптивно-статистичка дистрибуција морфометријских вредности површине (*Area*) лумена великих сафенских вена, груписаних према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење аутовенских графтова, показује најмање вредности код вена које су припадале групи складишног раствора ХТК, приближне вредности у групама хепаринизоване аутологне крви (ХАК) и свеже препарисане крвне плазме (СЗП) и највеће, у групи са хепаринизованим физиолошким раствором (ХФР) (Табела 23). Применом Т теста за независне групе утврђено је да постоји статистички значајна разлика између следећих скупова: хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и хепаринизоване аутологне крви (ХАК); свеже замрзнуте плазме (СЗП), хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и свеже замрзнуте плазме (СЗП); као и између хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и раствора ХТК (Табела 30а).

Табела 23. Приказ морфометријских вредности површине (*Area*) лумена великих сафенских вена, груписаних према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење аутоуенских графтова.

<i>Area</i>				
лумена великих сафенских вена				
	ХФР	ХАК	СЗП	ХТК
$\bar{X} \pm SD (mm^2)$	2.066 ± 0.783	1.234 ± 0.981	1.121 ± 0.397	1.117 ± 0.731
Медијана (mm^2)	1.954	1.336	1.086	0.869
<i>Min</i> (mm^2)	0.833	0.194	0.665	0.342
<i>Max</i> (mm^2)	3.487	3.344	2.089	2.490

ХФР – хепаринизовани 0.9% *NaCl* физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол)

Највеће вредности површине (*Area*) контуре целог венског суда забележене су код узорак великих сафенских група припалих групи третмана хепаринизованим физиолошким раствором (ХФР), приближних вредности су узорци из група хепаринизоване аутологне крви (ХАК) и свеже замрзнуте плазме (СЗП), док су најмање у групи раствора ХТК (Табела 23). Применом Т теста за независне група утврђено је да постоји статистички значајна разлика између следећих скупова: хепаринизовани физиолошки раствор (ХФР) и хепаринизована аутологна крв (ХАК), као и између узорак група хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и раствора ХТК (Табела 30.а).

Табела 24. Приказ морфометријских вредности површине (*Area*) попречних пресека великих сафенских вена, груписаних према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење.

<i>Area</i> пресека целог суда				
	ХФР	ХАК	СЗП	ХТК
$\bar{X} \pm SD$ (mm^2)	6.12 ± 2.09	4.11 ± 1.79	4.51 ± 1.23	3.83 ± 1.50
Медијана (mm^2)	5.38	3.64	4.13	3.45
<i>Min</i> (mm^2)	3.79	2.06	2.68	1.60
<i>Max</i> (mm^2)	11.27	8.70	6.45	6.61

ХФР – хепаринизовани 0.9% *NaCl* физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол)

Највеће просечне вредности процентуалног удела површине (*Area%*) лумена вена забележен је у групи хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР), док су у осталим групама вредности биле мање и међусобно приближне (Табела 24). Применом Студентовог т-теста за упоређење независних група утврђено је да не постоји статистички значајна разлика у свим међусобним упоређењима група (Табела 30.а, Табела 30.б).

Табела 25. Приказ процентуалног удела површине (*Area%*) лумена великих сафенских вена према укупној површини попречног пресека суда, груписаних према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење.

<i>Area%</i> лумена				
	ХФР	ХАК	СЗП	ХТК
$\bar{X} \pm SD$ (%)	34.268 ± 10.896	27.513 ± 15.737	25.733 ± 9.857	27.818 ± 10.305
Медијана (%)	35.222	30.111	24.164	24.553
<i>Min</i> (%)	19.551	5.774	17.581	11.331
<i>Max</i> (%)	58.294	55.140	52.155	45.842

ХФР – хепаринизовани 0.9% *NaCl* физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол)

Највећа просечна вредност површине (*Area*) зида великих сафенских вена забележена је у групи хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР), а затим следећа нижа, у групи свеже замрзнуте плазме (СЗП), док су најмање и међусобно приближне забележене у остале две групе (Табела 26). Применом Т теста за независне групе утврђено је да постоји статистички значајна разлика између следећих скупова: хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и хепаринизоване крви (ХАК), као и између хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и раствора ХТК (Табела 30.а).

Табела 26. Приказ морфометријских вредности површине (*Area*) зида великих сафенских вена, на попречном пресеку, груписаних према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење.

	<i>Area</i> целог зида вене			
	ХФР	ХАК	СЗП	ХТК
$\bar{X} \pm SD$ (mm^2)	4.052 ± 1.630	2.878 ± 1.064	3.386 ± 1.183	2.712 ± 0.974
Медијана (mm^2)	3.457	2.837	3.085	2.616
<i>Min</i> (mm^2)	2.048	1.723	1.916	1.256
<i>Max</i> (mm^2)	7.778	5.361	5.315	4.229

ХФР – хепаринизовани 0.9% *NaCl* физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол)

Дистрибуција морфометријских вредности површина (*Area*) туника интима (*IntXor*) великих сафенских вена, показује највеће и приближне вредности у групама хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и свеже смрзнуте плазме (СЗП), док су мање и приближне забележене у групама хепаринизоване аутологне крви (ХАК) и раствора ХТК (Табела 27). Међутим, њихов процентуални удео (удео%) у површини зида великих сафенских вена, на попречном пресеку, показује другачији вид дистрибуције, где су највеће и приближне вредности забележене у групама хепаринизоване аутологне крви (ХАК) и свеже замрзнуте плазме (СЗП), док су мање и приближне забележене у групама хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и раствора ХТК (Табела 27). Применом Студентовог т-теста за упоређење независних група, утврђено је да не постоји статистички значајна разлика у свим испитиваним поређењима, (Табела 30.а и Табела 30.б).

Табела 27. Приказ морфометријских вредности површине тунике интимае, као и њихов процентуални удео у површини зида великих сафенских вена, на попречном пресеку, груписаних према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење.

	<i>Area IntXor</i>			
	ХФР	ХАК	СЗП	ХТК
$\bar{X} \pm SD (mm^2)$	1.041 ± 0.618	0.912 ± 0.739	1.051 ± 0.705	0.788 ± 0.571
удео (%)	26.299 ± 11.883	28.375 ± 14.062	29.909 ± 13.431	26.581 ± 11.536
медијана (mm^2)	0.883	0.798	0.845	0.630
удео (%)	25.872	26.670	27.257	27.117
<i>Min</i> (mm^2)	0.355	0.173	0.384	0.174
удео (%)	6.712	10.015	12.852	11.638
<i>Max</i> (mm^2)	2.132	2.594	2.651	1.999
удео (%)	40.509	48.388	53.581	47.264

ХФР – хепаринизовани 0.9% *NaCl* физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свежје замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол); *Area IntXor* – површина пресека тунике интимае сафенске вене

Просечне вредности површине (*Area*) циркуларног подслоја тунике интимае (*CirkXor*), показале су највеће вредности у групи хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР), затим мање и релативно приближне у групама свежје замрзнуте плазме (СЗП) и раствора ХТК, док су најмање забележене у групи хепаринизоване аутологне крви (ХАК) (Табела 28). Међутим, њихов процентуални удео (удео%) у површини зида великих сафенских вена на попречном пресеку, показује другачију дистрибуцију, тако да су највише вредности забележене у групи раствора ХТК, затим мање у групи хепаринизоване аутологне крви (ХАК), затим групи свежје замрзнуте плазме (СЗП) и напослетку, хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) (Табела 28). Применом Студентовог т-теста за упоређење независних група, утврђено је да постоји статистички значајна разлика при поређењу вредности процентуалног удела (удео %) површине (*Area*) циркуларног подслоја тунике медије (*CirkXor*) у површини зида великих сафенских вена, између група хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и раствора ХТК, као и између група свежје замрзнуте плазме (СЗП) и раствора ХТК (Табела 30.б).

Табела 28. Приказ морфометријских вредности површине циркуларног подслоја тунике интимае, као и њихов процентуални удео у површини зида великих сафенских вена на попречном пресеку, груписаних према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење.

	<i>Area CirkXor</i>			
	ХФР	ХАК	СЗП	ХТК
$\bar{X} \pm SD (mm^2)$	1.689 ± 0.811	1.406 ± 0.388	1.512 ± 0.357	1.584 ± 0.498
удео (%)	42.795 ± 15.692	51.157 ± 11.130	47.219 ± 12.311	60.204 ± 10.108
Медијана (mm^2)	1.557	1.220	1.551	1.562
удео (%)	42.622	47.747	45.069	58.685
<i>Min</i> (mm^2)	0.601	1.088	0.912	0.850
удео (%)	18.794	39.293	32.531	44.759
<i>Max</i> (mm^2)	3.542	2.322	2.139	2.402
удео (%)	70.166	69.327	74.756	75.933

ХФР – хепаринизовани 0.9% NaCl физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол); *Area CirkXor* – површина пресека циркуларног подслоја медије сафенске вене

Просечне вредности површине (*Area*) спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја (*Area SpLonXor*) показале су следећу дистрибуцију од најмањих до највећих, по групама: раствор ХТК, хепаринизована аутологна крв (ХАК), свеже смрзнута плазма (СЗП) и на крају, хепаринизовани физиолошки раствор (ХФР) (Табела 29). Међутим, дистрибуција њихових процентуалних удела (удео%) у површини зида великих сафенских вена, показао је другачији вид дистрибуције, од најмањих до највећих вредности, следећим редом по групама: хепаринизована аутологна крв (ХАК), хепаринизовани физиолошки раствор (ХФР), свеже замрзнута плазма (СЗП), и на највеће, у групи раствора ХТК (Табела 29). Применом Студентовог т-теста за независне групе утврђено је да не постоји статистички значајна разлика код поређења следећих група: хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и раствора ХТК, као и између свеже замрзнуте плазме (СЗП) и раствора ХТК (Табела 30.б).

Табела 29. Приказ морфометријских вредности површине спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја, као и њихов процентуални удео у површини зида великих сафенских вена, на попречном пресеку, груписаних према примени одговарајућег раствора за интраоперативно складиштење.

<i>Area SpLonXor</i>				
	ХФР	ХАК	СЗП	ХТК
$\bar{X} \pm SD (mm^2)$	1.322 ± 0.943	0.560 ± 0.321	0.823 ± 0.686	0.340 ± 0.084
удео (%)	30.906 ± 12.927	20.468 ± 11.340	22.873 ± 12.668	13.215 ± 2.751
Медијана (mm^2)	1.145	0.446	0.489	0.352
удео (%)	32.349	17.688	20.409	13.237
<i>Min</i> (mm^2)	0.256	0.192	0.239	0.201
удео (%)	12.500	8.309	6.968	7.977
<i>Max</i> (mm^2)	3.714	1.292	2.218	0.445
удео (%)	47.747	45.729	41.741	18.419

ХФР – хепаринизовани 0.9% NaCl физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол); *Area SpLonXor* – површина пресека лонгитудиналног подслоја медије сафенске вене

Табела 30а. Упоређење Студентовим т-тестом за независне групе за морфометријске вредности.

Групе у односу на раствор			P				
I група	II група	Area лумен	Area цео суд	<i>AreaIntXor</i>	<i>AreaCirXor</i>	<i>AreaSpLonXor</i>	<i>Area</i> цео зид
ХФР	ХАК	0.05 *	0.33	0.678	0.332	0.270	0.073
ХФР	СЗП	0.003 *	0.050 *	0.972	0.534	0.1930	0.310

ХФР	ХТК	0.012 *	0.011 *	0.355	0.731	0.004 *	0.039 *
ХАК	СЗП	0.740	0.573	0.672	0.534	0.287	0.326
ХАК	ХТК	0.767	0.706	0.680	0.383	0.050 *	0.721
СЗП	ХТК	0.0989	0.284	0.372	0.712	0.040 *	0.181

ХФР – хепаринизовани 0.9% NaCl физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол); *Area IntXor* – површина пресека тунике интима сафенске вене, *Area CirkXor* – површина пресека циркуларног подслоја медије сафенске вене, *Area SpLonXor* – површина пресека лонгитудиналног подслоја медије сафенске вене

Табела 30.б. Упоређење Студентовим т-тестом за независне групе за процентуалне вредности.

Групе у односу на раствор		P			
I група	II група	<i>Area%лумен</i>	<i>Area%IntXor</i>	<i>Area%CirXor</i>	<i>Area%SpLonXor</i>
ХФР	ХАК	0.279	0.726	0.186	0.071
ХФР	СЗП	0.83	0.532	0.492	0.177
ХФР	ХТК	0.191	0.958	0.009 *	0.001 *
ХАК	СЗП	0.765	0.806	0.463	0.660
ХАК	ХТК	0.960	0.759	0.073	0.065
СЗП	ХТК	0.649	0.560	0.019 *	0.030 *

ХФР – хепаринизовани 0.9% NaCl физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол); *Area%IntXor* – површина пресека тунике интима сафенске вене, *Area%CirXor* – површина пресека циркуларног подслоја медије сафенске вене, *Area%SpLonXor* – површина пресека лонгитудиналног подслоја медије сафенске вене

Применом Студентовог Т теста за упоређење независних група утврђено је да не постоји статистички значајна разлика између површина лумена (*Area* лумена), подслоја тунике интима (*AreaIntXor*), циркуларног (*AreaCirXor*) и лонгитудиналног подслоја

глаткомишићних ћелија (*AreaSpLonXor*) приликом међусобног поређења у свим испитиваним случајевима у односу на пол испитаника (Табела 31).

Табела 31. Упоређење Студентовим т-тестом за независне групе

Групе у односу на пол		p			
I група	II група	<i>Area</i> лумена	<i>AreaIntXor</i>	<i>AreaCirXor</i>	<i>AreaSpLonXor</i>
М	Ж	0.328	0.855	0.486	0.331

Area лумена – површина пресека лумена великих сафенских вена, *Area IntXor* – површина пресека тунике интима сафенске вене, *Area CirkXor* – површина пресека циркуларног подслоја медије сафенске вене, *Area SpLonXor* – површина пресека лонгитудиналног подслоја медије сафенске вене

Применом Студентовог Т теста за упоређење независних група утврђено је да не постоји статистички значајна разлика између површина лумена (*Area* лумена), подслоја тунике интима (*Area IntXor*), циркуларног (*Area CirkXor*) и лонгитудиналног подслоја глаткомишићних ћелија (*Area SpLonXor*) приликом међусобног поређења у свим испитиваним случајевима у односу на присуство дијабетеса тип 2 код испитаника (Табела 32).

Табела 32. Упоређење Студентовим т-тестом за независне групе.

Групе у односу на дијабетес		p			
I група	II група	<i>Area</i> лумена	<i>AreaIntXor</i>	<i>AreaCirXor</i>	<i>AreaSpLonXor</i>
Да	Не	0.535	0.670	0.802	0.474

Area лумена – површина пресека лумена великих сафенских вена, *Area IntXor* – површина пресека тунике интима сафенске вене, *Area CirkXor* – површина пресека циркуларног подслоја медије сафенске вене, *Area SpLonXor* – површина пресека лонгитудиналног подслоја медије сафенске вене

Очување интегритета ендотела туника интима узорака великих сафенских вена, забележено је присуством имунохистохемијског обележавања антигена *CD34*, док је денудираност ендотела тунике интима, евидентирана као одсуство имунохистохемијске обележености *CD34*, али што је уједно и морфолошко одсуство ендотелног покрива. Морфометријски, процентуални однос присуства односно одсуства ендотела

евидентиран имунохистохемијским обележавањем на *CD34*, приказан је у табели 33. Приказане су просечне вредности (\bar{X}), стандардна девијација (*SD*), медијана дистрибуције, минималне (*min*) и максималне (*max*) вредности за доказану процентуалну заступљеност (*CD34*поз%) и одсуства (*CD34*нег%) параметра у подслоју тунике интима свих узорака сафенских вена без обзира на групу испитаника по раствору за препарацију и складиштење у коју је испитаник сврстан. Средња вредност очуваности интегритета ендотелних ћелија износи 64.73% уз стандардну девијацију од 33.54%. Медијана дистрибуције износи 80.39%, док је минимална вредност 0.00%, а максимална 98.67% (Табела 33).

Табела 33. Имунохистохемијски доказана процентуална заступљеност *CD34* (*CD34*поз%) у ендотелу туника интима свих узорака великих сафенских вена ($n=40$).

	<i>CD34</i> поз(%)	<i>CD34</i> нег(%)
\bar{X}	64.73	35.27
<i>SD</i>	33.54	33.54
Медијана	80.39	19.61
<i>min</i>	0.00	1.33
<i>max</i>	98.67	100.00

Приказане су просечне вредности (М 64.8%, Ж 64.45%), стандардна девијација (М 33.78%, Ж 34.70%), минималне (М 2.65%, Ж 4,25%) и максималне (М 98.67%, Ж 97.63%) вредности за доказану процентуалну заступљеност *CD34*поз% параметра у интималном слоју свих узорака сафенских вена у односу на пол испитаника. Од 40 испитаника 9 испитаника је женског пола (22.5%), а 31 испитаник мушког (77.5%). Није забележена статистички значајна разлика *CD34*поз% у односу на пол испитаника (Табела 33). Графички приказане вредности параметра *CD34*поз% у односу на пол испитаника (Графикон 5). Графички приказана процентуална расподела испитаника према полу (Графикон 6).

Табела 34. Табеларни приказ статистичких вредности за $CD34$ поз% по групама у односу на пол.

Пол	N	%	\bar{X}	SD	Min	Max
М	31	77.5	64.80	33.78	2.65	98.67
Ж	9	22.5	64.45	34.70	4.25	97.63
Сви	40	100	64.73	33.53	2.96	98.67



Графикон 5. представља средње вредности $CD34$ поз% у односу на пол испитаника.



Графикон 6. приказује процентуалну расподелу испитаника према полу. Од укупно 40 испитаника 9 је женског пола, а 31 испитаник мушког.

Нема статистички значајне разлике у проценту *CD34*-позитивног ендотела између мушке (М) и женске (Ж) подгрупе. Овај став се заснива на *p*-вредности од 0.978, која је веома висока, што указује на недостатак статистички значајне разлике између полова у овом контексту. 95% интервал конфиденцијалности за разлику у *CD34*-позитивном проценту између полова (доња и горња граница) показује широк опсег вредности, од -25.69% до 26.4%. Ово додатно потврђује да нема јасне и статистички значајне разлике између полова у овом параметру, јер интервал конфидентности обухвата нулу (Табела 35).

Табела 35. Упоређење Студентовим т-тестом за независне групе. Поређење група у односу на пол.

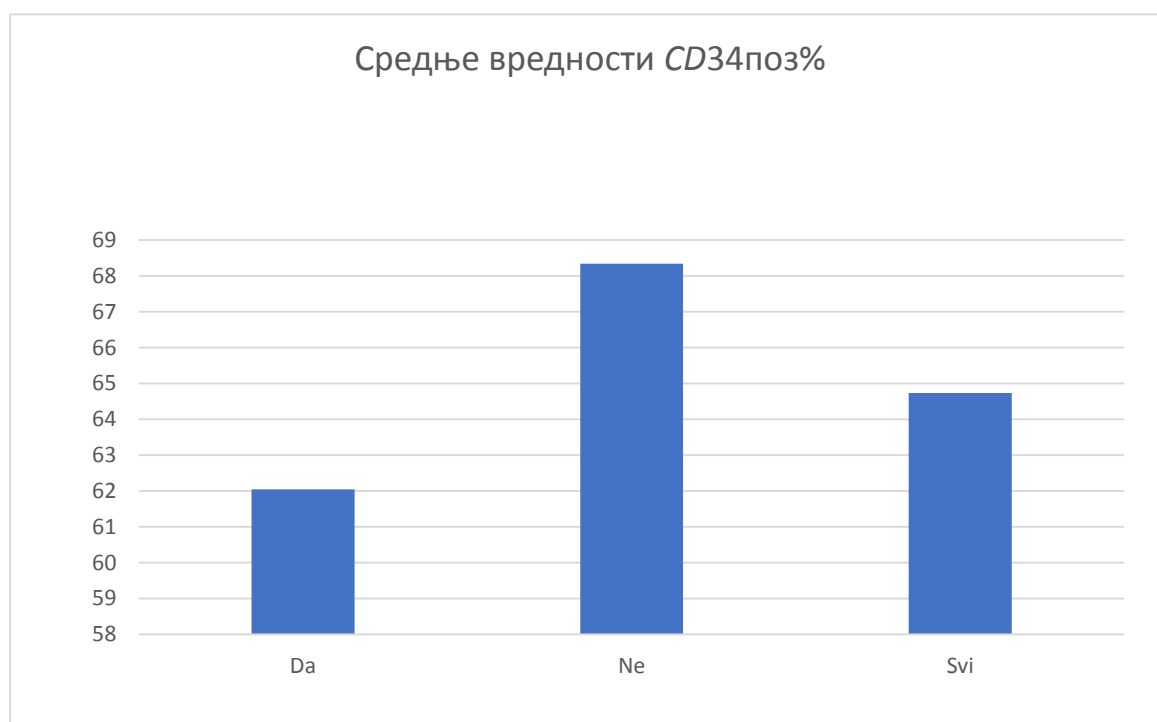
<i>CD34</i> поз% у односу на пол		95% интервал конфидентности		
I група	II група	<i>p</i>	Доња граница	Горња граница
М	Ж	0.978	-25.69	26.4

Нема статистички значајне разлике у вредностима *CD34*поз% између ових група.

На Табели 36 приказан је број испитаника (23 дијабетичара и 17 испитаника који нису оптерећени дијабетесом тип 2), просечне вредности (62.4% ДМ, 68.34% без ДМ), стандардна девијација (34.59% ДМ, 32.73% без ДМ), минималне (4.25% ДМ, 2.96% без ДМ) и максималне вредности за доказану процентуалну заступљеност $CD34_{\text{поз}}\%$ параметра у интималном слоју свих узорка сафенских вена у односу на тип 2 дијабетес испитаника. Није забележена статистички значајна разлика $CD34_{\text{поз}}\%$ (Табела 36) Графички приказане просечне вредности процентуалне заступљености $CD34_{\text{поз}}\%$ параметра по основи присуства дијабетеса (Графикон 7).

Табела 36. Табеларни приказ статистичких вредности за $CD34_{\text{поз}}\%$ ендотела туника интима великих сафенских вена по групама у односу на дијабетес

Тип 2 ДМ	N	%	\bar{X}	SD	Min	Max
Да	23	57.5	62.04	34.59	4.25	98.50
Не	17	42.5	68.34	32.73	2.96	98.67
Сви	40	100	64.73	33.53	2.96	98.67



Графикон 7. Просечне вредности процентуалне заступљености $CD34_{\text{поз}}\%$ позитивног ендотела (CD34поз%) у туници интими по основи присуства дијабетеса.

Резултати процентуалне заступљености *CD34*-позитивних ћелија (*CD34* поз%) у зависности од присуства дијабетеса приказани су на Табели 37. Не постоји статистички значајна разлика у *CD34* поз% параметра у интималном слоју свих узорака сафенских вена између групе пацијената са дијабетесом и оне без дијабетеса ($p=0.562$). Интервал конфиденцијалности од 95% за разлику у *CD34*-позитивном проценту између група показује вредности од -28.23% до 15.57% (Табела 37).

Табела 37. Упоређење Студентовим т-тестом процентуалне заступљености имунохистохемијски детектоване позитивности ендотела на *CD34* (*CD34*поз%) за независне групе по основи присуства дијабеса.

<i>CD34</i> поз% у односу на дијабетес		95% Интервал конфидентности		
I група	II група	p	Доња граница	Горња граница
Да	Не	0.562	-28.23	15.57

Применом Т теста за независне група утврђено је да не постоји статистички значајна разлика у свим испитиваним случајевима у односу на присуство тип 2 дијабетеса код испитаника.

Наведени подаци о средњој вредности степена денудираниости ендотела за раствор свеже замрзнуте плазме ($CD34_{\text{нег}}\% = 12.58 \pm 31.74$), аутологне крви ($CD34_{\text{нег}}\% = 28.03 \pm 30.19$), хепаринизираниог физиолошког раствора ($CD34_{\text{нег}}\% = 37.69 \pm 31.74$) и раствора ХТК ($CD34_{\text{нег}}\% = 62.78 \pm 36.13\%$), наведено од најмање према највећој вредности. Разлика је статистички значајна између раствора хепаринизираниог физиолошког раствора и раствора свеже замрзнуте плазме ($p=0.033$), хепаринизоване аутологне крви и раствора ХТК ($p=0.031$) и свеже замрзнуте плазме и *Bretschneider*-овог раствора ($p=0.001$) (Табела 38).

Табела 38. Степен денудираности ендотела исказан процентима присуства ($CD34_{\text{поз}}\%$) и одсуства ($CD34_{\text{нег}}\%$) имунохистохемијске реакције на $CD34$ тунике интима великих сафенских вена, приказано по групама истраживања.

	ХФР ($n=10$)		ХАК ($n=10$)		СЗП ($n=10$)		ХТК ($n=10$)	
	$CD34_{\text{поз}}$ (%)	$CD34_{\text{нег}}$ (%)	$CD34_{\text{поз}}$ (%)	$CD34_{\text{нег}}$ (%)	$CD34_{\text{поз}}$ (%)	$CD34_{\text{нег}}$ г (%)	$CD34_{\text{поз}}$ (%)	$CD34_{\text{нег}}$ (%)
\bar{X}	62.31	37.69	71.97	28.03	87.42	12.58	37.22	62.78
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
SD	31.74	31.74	30.19	30.19	13.11	13.11	36.13	36.13
		#		*		#, \$		*, \$
Медија на	65.58	34.42	82.69	17.32	92.90	7.10	26.76	73.24
min	2.96	3.67	16.44	2.37	61.34	1.33	0.00	6.19
max	96.33	97.04	97.63	83.56	98.67	38.66	93.81	100.00

* вредност $p=0.031$ за хепаринизирани аутологну крв (ХАК) и раствор свеже замрзнуте плазме (СЗП); # вредност $p=0.033$ за хепаринизирани 0.9% физиолошки раствор (ХФР) и раствор ХТК ; \$ вредност за $p=0.001$ за ХТК раствор и раствор свеже замрзнуте плазме (СЗП)

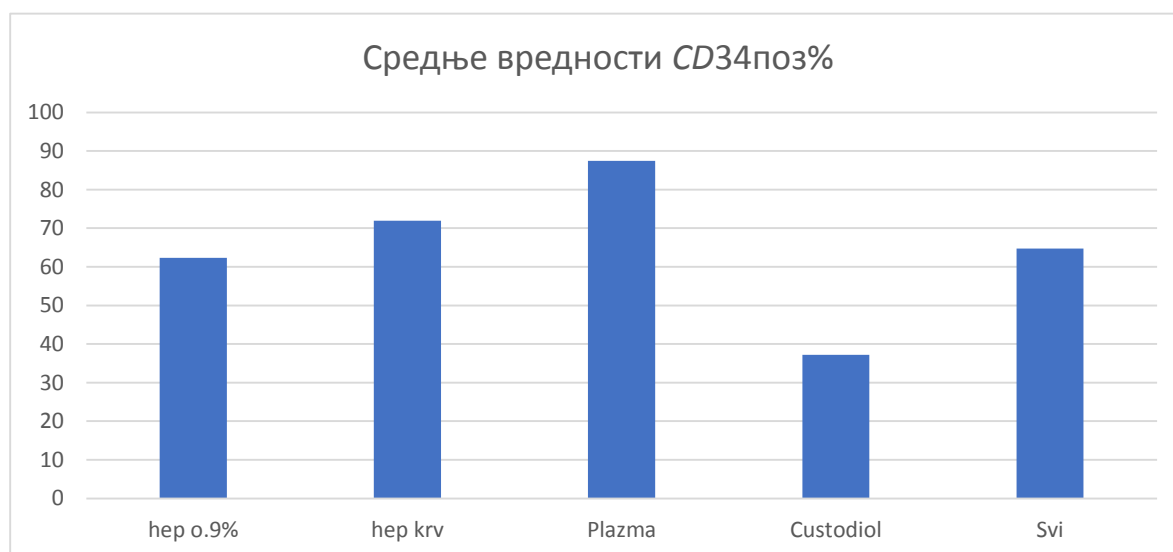
На табели 39 је приказан број испитаника по групама и вредности просечне вредности, стандардна девијација, минималне и максималне вредности за испитивани параметар имунохистохемијске реакције на $CD34$ тунике интима великих сафенских вена $CD34_{\text{поз}}\%$ по групама испитаника у односу на један од четири коришћена раствора представљених по редоследу очуваности: Раствор свеже замрзнуте плазме (СЗП) (средња вредност 81.41% са стандардном девијацијом од 13.11%, минималном вредношћу од 61.34% и максималном вредношћу од 98.67%); Хепаринизирана аутологна крв (ХАК) (средња вредност 71.97% са стандардном девијацијом од 30.19%, минималном вредношћу од 16.44% и максималном вредношћу од 76.63%); Хепаринизирани раствор 0.9% $NaCl$ (ХФР) (средња вредност 62.31% са стандардном девијацијом од 31.74%, минималном вредношћу од 2.96% и максималном вредношћу од 96.33%); Раствора ХТК (средња вредност 37.21% са стандардном девијацијом од 34.41%, минималном

вредношћу од 4.25% и максималном вредношћу од 93.81%) (Табела 38). Графички су приказане средње вредности параметра $CD34_{\text{поз}}\%$ у односу на коришћени раствор (Графикон 8).

Табела 39. Табеларни приказ статистичких вредности за $CD34_{\text{поз}}\%$ по групама у односу на раствор

Раствор	N	\bar{X}	SD	Min	Max
Хепаринизирани раствор 0.9% NaCl (ХФР)	10	62.31	31.74	2.96	96.33
Хепаринизирана аутологна крв (ХАК)	10	71.97	30.19	16.44	97.63
Свеже замрзнута плазма (СЗП)	10	87.41	13.11	61.34	98.67
Раствор ХТК	10	37.21	34.41	4.25	93.81
Сви	40	64.73	33.53	2.96	98.67

ХФР – хепаринизовани 0.9% NaCl физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол);



Графикон 8. Графички приказ средњих вредности $CD34_{\text{поз}}\%$ по групама у односу на коришћени раствор. Свака од група има исти број узорака.

Статистички значајна разлика, по питању мереног параметра CD34поз% који показује процентуалну заступљеност имунохистохемијски CD34 позитивног ендотела у интималном слоју, забележена је између група узорака на чијим ткивним узорцима су коришћени раствори: хепаринизованог 0.9% NaCl (ХФР) и раствора свеже замрзнуте плазме (СЗП) ($p=0.33$); хепаринизоване аутологне крви (ХАК) и раствора ХТК ($p = 0.31$); раствора свеже замрзнуте плазме (СЗП) и раствора ХТК ($p = 0.001$) (Табела 40).

Табела 40. Резултати Студентовог т-теста за независне групе – поређење група великих сафенских вена класификованих према примењеном раствору за интраоперативно складиштење, на основу процентуалне позитивности ендотела тунике интима на антиген CD34 (CD34поз%).

CD34поз% у односу на раствор			95% Интервал confidentности	
I група	II група	p	Доња граница	Горња граница
ХФР	ХАК	0.494	-38.77	19.44
ХФР	СЗП	0.033 *	-47.92	-2.29
ХФР	ХТК	0.116	-6.86	57.05
ХАК	СЗП	0.155	-37.31	6.42
ХАК	ХТК	0.031 *	3.47	66.04
СЗП	ХТК	0.001 *	24.66	75.73

ХФР – хепаринизовани 0.9% NaCl физиолошки раствор; ХАК – хепаринизирана аутологна крв; СЗП - свеже замрзнута плазма; ХТК – *Bretschneider*-ов раствор (Кустодиол); у случајевима означеним звездом постоји статистички значајна разлике између посматраних група. Интервал confidentности за разлику код поређења група за CD34поз% за 95% confidentности

Процена зависности денудације ендотела тунике интима великих сафенских вена, од присуства фиброплазије по групама примењених раствора за интраоперативно складиштење венских кондуита, изражена у процентима, показала је најмању просечну вредност денудације код групе са раствором свеже замрзнуте плазме (СЗП) (15.134 ± 14.570), а највећа код групе чију су узорци складиштени у ХТК раствору (58.794 ± 41.145) (Табела 41). Такође, у групама ХФР, ХАК и СЗП примењен је виши проценат денудације

у подгрупама са фибропластично измењеном туником интимом, међутим, није утврђена статистички значајна унутаргрупна разлика ($p < 0.05$).

Табела 41. Приказ процентуалне денудације ендотела интима великих сафенских вена, чији степен је утврђиван имунохистохемијским обележавањем на $CD34$ ($CD34_{нег\%}$), а према групама истраживања и присуства фиброплазије ($n=40$).

$CD34_{нег\%}$	морфологија	$\bar{X} \pm SD$	<i>Med</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>
	тунике интима	(%)	(%)	(%)	(%)
ХФР	<i>n</i>	25.162 ± 26.879	13.290	4.380	69.350
	<i>f</i>	50.216 ± 33.949	55.510	3.670	97.040
ХАК	<i>n</i>	15.748 ± 13.683	10.590	2.370	37.660
	<i>f</i>	40.308 ± 38.559	19.500	2.840	83.560
СЗП	<i>n</i>	10.034 ± 12.582	1.960	1.330	29.730
	<i>f</i>	15.134 ± 14.570	7.590	3.090	38.660
ХТК	<i>n</i>	66.770 ± 34.707	82.940	11.680	93.150
	<i>f</i>	58.794 ± 41.145	63.540	6.190	100.000

ХФР - група третитана хепаринизованим физиолошким раствором; ХАК - група третирана хепаринизованом крвљу; СЗП - група третирана крвном плазмом; ХТК - група третирана раствором *Bretschneider*-овим раствором (Кустодиолом); *n* – одсуство фиброплазије тунике интима; *f* – присуство фиброплазије тунике интима.

ИСПИТИВАЊЕ КОРЕЛАЦИЈА ИЗМЕЂУ КЛИНИЧКИХ И МОРФОМЕТРИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА

Употребом Пирсонове корелативне статистичке методе није нађена статистички значајна корелација између вредности *CD34*поз% и параметара: *TnI6h*, *TnI18h*, *TnI42h*, *CK6h*, *CK18h*, *CK42h*, *CKMB6h*, *CKMB18h*, *CKMB42h* (Табела). Такође, не постоји корелација између *CD34*поз% и старости пацијената, као ни између *CD34*поз% и времена експозиције (није приказано). Иако не постоји корелација између вредности *CD34*поз% и осталих наведених параметара, што је и очекивано, постоји статистички веома висока корелација, при њиховом међусобном корелативном упоређењу (Табела 42).

Табела 42. Пирсонова корелација између вредности параметара *CD34*поз%, *TnI6h*, *TnI18h*, *TnI24h*, *CK6h*, *CK18h*, *CK42h*, *CKMB6h*, *CKMB18h* и *CKMB42h*

		<i>CD34</i> поз %	<i>TnI</i> 6h	<i>TnI</i> 18h	<i>TnI</i> 42h	<i>CK</i> 6h	<i>CK</i> 18h	<i>CK</i> 42h	<i>CKMB</i> 6h	<i>CKMB</i> 18h
<i>TnI6h</i>	r	-0.268								
	P	0.095								
<i>TnI18h</i>	r	0.087	0.884*							
	P	0.596	0.000							
<i>TnI42h</i>	r	-0.008	0.716*	0.936*						
	P	0.960	0.000	0.000						
<i>CK6h</i>	r	0.14	0.543*	0.652*	0.727*					
	P	0.930	0.000	0.000	0.000					
<i>CK18h</i>	r	0.159	0.391*	0.384*	0.349*	0.530*				
	P	0.328	0.013	0.014	0.027	0.000				
<i>CK42h</i>	r	0.043	0.475*	0.370*	0.257	0.415*	0.893*			
	P	0.792	0.002	0.019	0.109	0.008	0.000			
<i>CKMB6h</i>	r	0.033	0.665*	0.796*	0.862*	0.774*	0.547*	0.446*		
	P	0.841	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004		

CKMB18h	r	0.172	0.635*	0.741*	0.709*	0.619*	0.791*	0.680*	0.805*	
	P	0.288	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
CKMB42h	r	0.072	0.505*	0.526*	0.520*	0.648*	0.835*	0.835*	0.705*	0.802*
	P	0.660	0.001	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

TnI - тропонин; CK - креатин киназа; CKMB - креатин киназа MB (*muscle brain*)

* - статистички значајна корелација ($p < 0.05$)

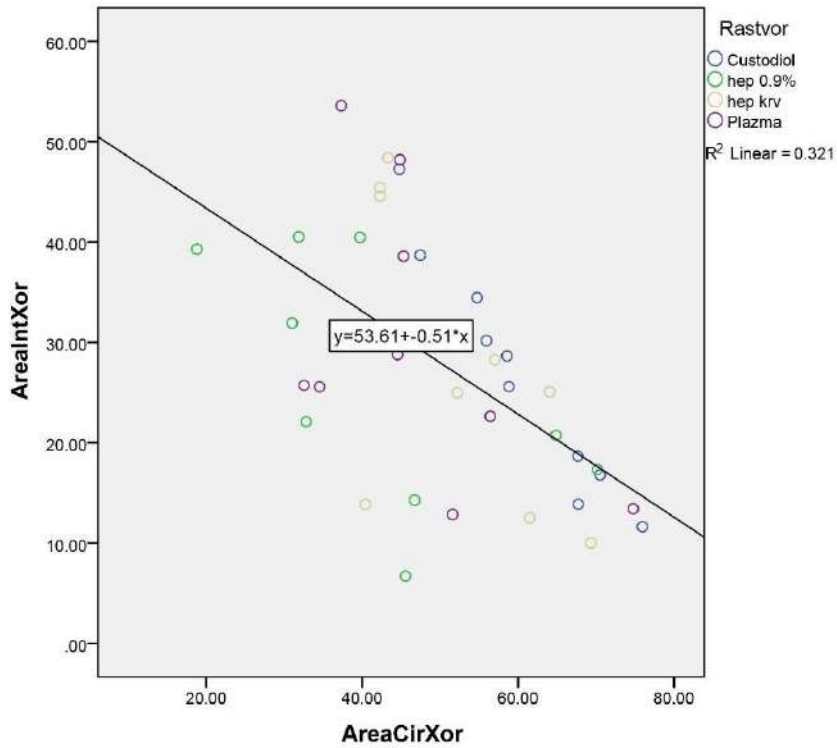
Употребом Пирсоновог теста статистичке корелације, забележена је статистички значајна негативна корелација између вредности процентуалног удела површина туника интима (*Area%IntXor*), са процентуалним уделом површина циркуларног подслоја (*Area%CirXor*) великих сафенских вена, такође и између вредности процентуалног удела површина спољашњег уздужног мишићног подслоја (*Area%SpLonXor*) са вредностима проценталним уделом површина циркуларног подслоја тунике медије (*Area%CirXor*) у укупној површини зида великих сафенских вена (Табела 43, Графикони 9 и 10). Овакав однос између споменутих параметара, говори у прилог законитости организације структуре зида великих сафенских вена, при којој, крупнија конституција било које од споменутих компоненти, у укупном саставу зида вене је у комбинацији са мањом конституцијом друге две компоненте. Статистички значајна корелација није забележена између процентуалне заступљености CD34 позитивности у ендотелу туника интима (*CD34поз%*) великих сафенских вена и површне њихових лумена (*Area lum*) према вредностима површина делова зида ових вена.

Табела 43. Значајности (*p*) Пирсонове статистичке корелације између вредности процентуалног удела површина (*Area%*) лумена (у укупној површини венског суда), процентуалног удела површине тунике интима (*Area%IntXor*), процентуалног удела површине циркуларног подслоја тунике медије (*Area%CirXor*), процентуалног удела површине спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја (*Area%SpLonXor*) у укупној површини зида вене и процентуалне заступљености имунохистохемијски *CD34* позитивног (*CD34поз%*) ендотела, великих сафенских вена.

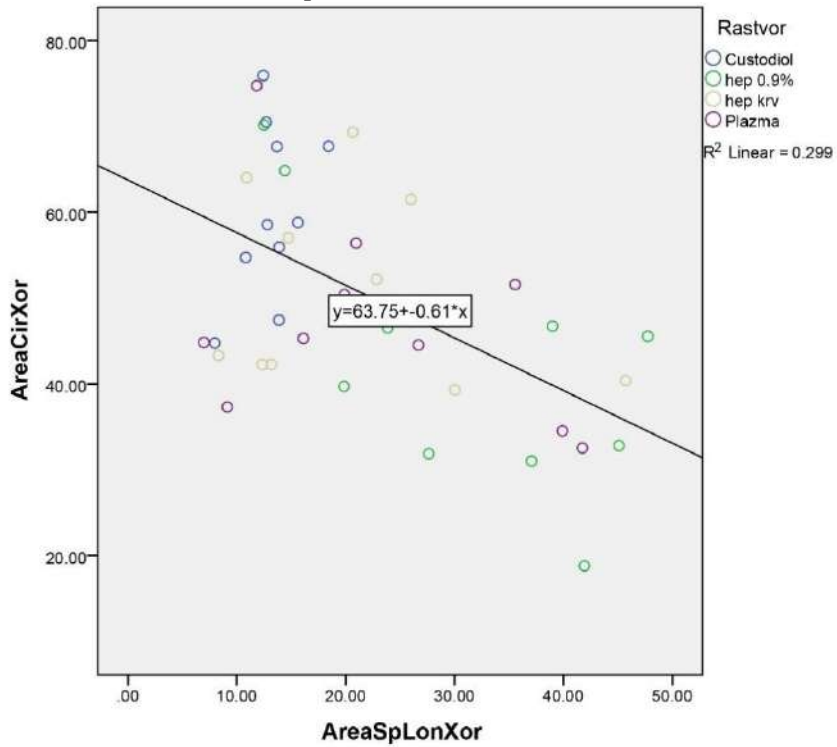
		<i>CD34поз%</i>	<i>Area%lum</i>	<i>Area%IntXor</i>	<i>Area%CirXor</i>
<i>Area%lum</i>	r	-0.138			
	P	0.395			
<i>Area%IntXor</i>	r	-0.200	-0.091		
	P	0.216	0.575		
<i>Area%CirXor</i>	r	-0.005	0.168	-0.566 *	
	P	0.974	0.301	0.000	
<i>Area%SpLonXor</i>	r	0.209	-0.095	-0.381 *	-0.546 *
	P	0.195	0.558	0.015	0.000

*- статистички значајна Пирсонова корелација

Графикон 9. Графички приказ зависности између морфолошких параметара $Area\%IntXor$ и $Area\%CirXor$.



Графикон 10. Графички приказ зависности између морфолошких параметара $Area\%CirXor$ и $Area\%SpLonXor$.



Дискусија

О ХИРУРШКОМ ПОСТУПКУ И КЛИНИЧКИМ ПАРАМЕТРИМА

Велика сафенска вена се као графт користи у кардиохирургији више од 50 година (89). Међутим, оперативна реваскуларизација миокарда извођењем аорто-коронарних бајпасева, носи са собом изузетно патофизиолошко оптерећење свих чинилаца тог процеса, пре свега по структуре кондуита и по ткиво миокарда. Ова интраоперативна оптерећења, манифестују се и у касније, у постоперативном току, што је у нашем истраживању праћено бележењем серумских нивоа тропонина И (*TnI*, *ng/ml*), креатин киназе (*CK*, *U/L*) и креатин киназе МБ (*CKMB*, *U/L*). Вредности споменутих серумских показатеља указују на последице стреса које миокард трпи током извођења кардиоплегичног ареста који може бити пролонгитран. Код свих испитаника, независно од примењеног раствора за интраоперативно складиштење сафенских венских графтова, запажа се постепени пад просечних вредности тропонина И у постоперативном току (за 6. час 4.45 ± 7.54 , за 18. час 3.47 ± 8.45 и за 42. час 2.48 ± 7.82), где максималне вредности групе *TnI* за поједине пацијенте, чак и након 42. часа се одржавају на високом нивоу од 50 ng/ml , иако се у каснијем постоперативном току (до 42. часа) бележи статистички значајан пад просечних вредности тропонина И. Слични трендови су забележени и код креатин киназе МБ, са прво постепеним падом у 6. и 18. часу постоперативно, а затим, статистички значајни пад просечних вредности овог серумског показатеља до 42. часа. У случају кеатин киназе, долази и до пораста њене просечне вредности серумских нивоа у 18. часу и каснијег изразитог пада у 42. часу, при чему статистички значајна разлика између група варијабли класификованих према времену мерења (на 6., 18. и 42. час) показују статистички значајне разлике.

У циљу испитивања утицаја раствора за интраоперативно складиштење на постоперативно понашање сафенских венских аутографтова на укупни ефекат опоравка од интраоперативно извршеног стреса на миокард, подаци који се тичу праћења клиничког стања кардиоваскуларног система у постоперативном току (серумски нивои

тропонина И, креатин киназе и креатин киназе МБ) разврстани су према припадности примене раствора у своје четири групе (ХФР, ХАК, СЗП и ХТК).

При дистрибуцији серумских вредности параметара тропонина И, на основу испитиваних утицаја раствора за интраоперативно складиштење графтова, запажен је пад њихових просечних вредности са протоком постоперативног времена, за све групе, али је тај пад био мањи и постпенији у групи у којој су аутоvensки графтови великих сафенских вена били интраоперативно складиштени у раствору по *Bretschneider*-у (ХТК), међутим, није нађена статистички значајна разлика између група по споменутом параметру. Да су групе формиране по основи утицаја раствора за интраоперативно складиштење графтова биле релативно уједначене, говори и податак да употребом Студентовог т-теста за независне групе, није утврђена статистички значајна разлика између серумских вредности *TnI (ng/ml)* са протоком постоперативног времена, као и у односу на зависност од полне припадности, као ни по основи постојања дијабетеса код пацијената.

Употребом дескриптивно-статистичке анализе запажен је привремени пораст просечних вредности серумског нивоа *СКМВ (U/L)* (у мерењу на 18. час), пре њиховог пада (при мерењу у 42. часу) код пацијената са протоком времена у постоперативном току, у групама хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и раствора хепаринизоване аутологне крви (ХАК), у којима су аутоvensки графтови великих сафенских вена били интраоперативно складиштени, док су у групама свежје замрзнуте плазме (СЗП) и раствора по Бретшнајдеру (ХТК), серумске вредности *СК (U/L)*, показале постепени пад са протоком времена, међутим, није нађена статистички значајна разлика између група по споменутом параметру. Употребом Студентовог т-теста за независне групе, није утврђена статистички значајна разлика између серумских вредности *СКМВ (U/L)* са протоком постоперативног времена, а зависношћу у односу на полну припадност, као ни за постојање дијабетеса код пацијената.

Употребом дескриптивно-статистичке анализе запажен је пад просечних вредности серумског нивоа *СК (U/L)* код пацијената са протоком времена у постоперативном току, у групама хепаринизованог физиолошког раствора (ХФР) и свежје замрзнуте плазме (СЗП), у којима су аутоvensки графтови великих сафенских вена били интраоперативно складиштени, док су у групама раствора хепаринизоване аутологне крви (ХАК) и раствора по *Bretschneider*-у (ХТК), серумске вредности *СК (U/L)*, показале привремени пораст (у мерењу на 18. час), пре свог пада (при мерењу у

42. часу), међутим, није нађена статистички значајна разлика између група по споменутом параметру (Табела 8). Такође, употребом Студентовог т-теста за независне групе, није утврђена статистички значајна разлика између серумских вредности *CK (U/L)* са протоком постоперативног времена, а зависношћу у односу на полну припадност, као ни за постојање дијабетеса код пацијената.

Испитивањем корелације између пораста биохемијских вредности кардиотропних ензима, *TnI*, *CK* и *CK-MB* након 6, 12 и 42h постоперативно и степена забележене денудације ендотела (утврђеним имунохистохемијским обележавањем тунике интима вена на *CD34*) на утврђено је да не постоји статистички значајна релација између испитиваних параметара. Сви ови подаци указивати да аутовенски графт са релативно очуваним ендотелом одговарајуће дужине и са луменом који одговара лумену коронарне артерије, коректно сашивеним на одговарајућем месту код пацијента који ће да коригује факторе ризика има све шансе да буде проходан на коронарографији урађеној након 10 година уз могућност да до те коронарографије никада не дође.

Оштећење ткива након периода смањене снабдевености крви (било да је реч о потпуној или делимичној исхемији) може парадоксално постати озбиљније након поновног успостављања нормалног крвотока, познатог као реперфузија. Иако тежина повреда услед исхемијско-реперфузионог оштећења варира међу различитим ткивима, заједнички фактор у овом патолошком процесу код свих органа је микроваскуларна дисфункција. Кључну улогу у овом процесу играју ћелије ендотела, које испољавају отицање и одвајање од своје базалне мембране након што је ткиво подложно исхемијско-реперфузионој повреди. Поремећаји у микроваскуларној функцији након реперфузије често доводе до озбиљних проблема у регенерацији и функционисању ткива. Ови проблеми могу варирати у зависности од врсте ткива и трајања исхемије, али у основи, микроваскуларна дисфункција представља кључни фактор који доприноси погоршању стања након што се циркулација поново успостави. Истраживање и разумевање овог процеса су од суштинског значаја за развој ефикасних стратегија за превенцију и третман исхемијско-реперфузионих повреда у различитим медицинским сценаријима (90). Ендотелне ћелије, посебно у посткапиларним венулама, су подложне значајном оксидативном стресу. Ово је било експериментално потврђено на моделу мезентеричне артерије пацова, где су исхемијско-реперфузионе повреде резултирале знатним смањењем дебљине гликокаликсног слоја у мезентеричним венулама. Вероватно је да је овај ефекат последица оштећења гликокаликса, посебно гликозаминогликанских ланаца.

Значајно је напоменути да се утицај исхемијско-реперфузионих повреда на гликокаликс може смањити блокадом ензима познатог као ксантинска-оксидоредуктаза. Овај ензим има кључну улогу у производњи ендогених слободних радикала познатих као *ROS* (*Reactive Oxygen Species*). Интересантно је да се ксантинска-оксидоредуктаза везује за домен хепаран-сулфата присутан у гликокаликсу. Ова веза указује на централну улогу слободних радикала (*ROS*) у оштећењу гликокаликса током исхемијско-реперфузионих повреда. Разумевање овог процеса је од суштинског значаја јер сугерише на могуће стратегије за смањење оксидативног стреса и заштиту ендотелних ћелија, посебно у контексту исхемијско-реперфузионих повреда. Овај приступ може имати дубок утицај на развој терапија заштите ткива током хируршких интервенција или у случајевима васкуларних проблема повезаних са исхемијским стањима (91)

Ендотелни гликокаликс је први пут визуелизован пре неких 40 година уз помоћ електронске микроскопије али је ипак мало било познато о његовом саставу и функцији. У протеклим деценијама, његов значај за васкуларну физиологију и патологију постао је препознат као изузетно битан. Интересовање за (пато)физиологију гликокаликса започело је приметним ниским и варијабилним хематокритом у капиларима. Овај хематокрит био је условљен нивоом метаболичке и фармаколошке активације васкуларног система у капиларима и односом између брзине метаболичке активности и брзине кретања крви. Делимично, то може да објасни ефекат скиминга плазме као директну екстензију *Fåhræus*-овог принципа. Међутим, ова повезаност нестаје након локалног третмана хепариназом микросудова. Хепариназа има способност да разграђује хепарансулфат у гликокаликсу (92). Ова опсервација се подударала с теоријском претпоставком да постоји слој плазме дебљине $1.2 \mu m$ који се креће дуж ендотела. Међутим, *in vivo* истраживања су показала да је дебљина гликокаликса у капиларима мишића око $0.5 \mu m$. Овај слој покрива ендотелне ћелије и игра кључну улогу у одређивању пролаза у лумену за макромолекуле, црвена и бела крвна зрнца. Недавна истраживања указују да се дебљина гликокаликса мења у зависности од дијаметра крвног суда, посебно у артеријском систему, и може варирати од $2-3 \mu m$ у мањим артеријама до $4.5 \mu m$ у каротидним артеријама (93). Многа истраживања указују на различите (пато)физиолошке улоге ендотелног гликокаликса. Осим што регулише пуњење капилара еритроцитима, може имати утицај на разне (дис)функције васкуларног система. Како се сада сматра да је васкуларни ендотел укључен у развој готово свих манифестација патологија васкуларног система, исто важи и за ендотелни гликокаликс.

Међутим, процена потенцијалне улоге овог слоја представља изазов због потребе за поузданом визуализацијом.

Ендотелни гликокаликс је слој сличан гелу, богат угљеним хидратима, који прекрива васкуларни ендотел. Сматра се да је повезан с ендотелом путем неколико кључних молекула, претежно протеогликана и гликопротеина. Ови молекули заједно формирају мрежу у коју су уграђени многи растворљиви молекули из плазме или самог ендотела. Према лумену, гликокаликс се састоји од растворљивих компоненти које су директно повезане или посредно путем солубилних протеогликана и/или глукозаминогликана. Дебљина гликокаликса варира у зависности од пречника крвног суда, са најмањом дебљином у капиларима и највећом у великим артеријама. Постоји динамична равнотежа између компонената овог слоја које непрестано утичу на његову дебљину и састав. Дебљина гликокаликса такође варира под утицајем процеса крзања (*shedding*) узрокованих ензимима или силама које настају услед протока крви (*shear-stress*). Овај сложени баланс између биосинтезе и крзања отежава прецизно одређивање карактеристика овог слоја (94).

Састав мреже протеогликана, гликопротеина и гликозаминогликана, као и компоненти протеина и растворљивих гликозаминогликана у плазми, не треба посматрати као статичку појаву. Напротив, површински слој ендотела представља изразито динамично окружење, где су молекули везани за мембрану непрестано подложни замени и обнављању, без чврстих граница између локално синтетисаних компонената и оних који долазе из плазме. На пример, хијалуронан, који је везан за мембрану, може достићи дужину од преко 1 μm . Технике директног визуелног посматрања нису у стању јасно да разграниче разлике у саставу гликокаликса између ендотелне стране и луминалне стране. Уместо тога, указују на то да се ендотелни гликокаликс понаша као врло сложена, високо адаптивна, тродимензионална мрежа различитих полисахарида. Уклањање било које од компонената ензимски драматично утиче на карактеристике гликокаликса, што наглашава значај разумевања интеракција свих компонената као јединственог система који одржава у равнотежи коагулатне и антикоагулантне системе крвних судова. Откриће слоја релативно велике дебљине и његов утицај на начин виђења пропустљивости крвних судова, тј. трансендотелијалне баријере уопште, као и формирања едема је довело до велике ревизије *Starling*-ових принципа од стране *Weinbaum*-а и *Michel*-а који су предложили да се градијенти притиска примене само на ендотелни гликокаликс са својим клефтовима, тесним спојевима и

теоретским порам (95). Важност гликокаликса у контроли екстравазације колоида и течности се наглашава у истраживањима која су радили на моделу оштећене функције ендотелне баријере након деградације гликокаликса на моделу изолованог перфундованог срца свиња. Ендотелни гликокаликс је чувар ендотела, лоциран између крвотока и мембране ендотелних ћелија, представља веома важну детерминанту васкуларне пермеабилности (96).

Гликокаликс има способност да одређеним молекулима ограничи приступ плазмалемни ендотелне ћелије, што је демонстрирано у артеријама мезентеријума пацова користећи флуоресцентно обележене декстране различитих молекуларних величина. Делимично ензимско уклањање и накнадни губитак својства полупропустљивости капиларне баријере миокарда доводе до едема миокарда. Приликом разматрања пропустљивости, нису важни само величина молекула и стеричка препрека, већ и електростатички набој како гликокаликса, тако и супстанце која треба да прође. Пошто већина глицозаминогликанских ланаца има сулфатни набој, гликокаликс представља површину са негативним набојем која облаже унутрашњост циркулаторног система. Стога, неутрализација гликокаликса резултира повећаним апсорбовањем албумина од стране култивисаних ендотелних ћелија и повећаном пропустљивошћу за флуоресцентно обележене декстране у ћелијама мезентеријума пацова. Класичан модел описује микроваскуларну размену течности према *Starling*-овом закону из 1896. године, који тврди да филтрација течности кроз ендотел капилара зависи од хидрауличког и колоидног осмотског притиска у васкуларном лумену и околном ткиву (97). Такође је важно напоменути да *shear* стрес, чак и када гликокаликс није у потпуности присутан или функционалан, може да се преноси на друге делове ендотелних ћелија. То обухвата интерцелуларне везе и базалне адхезионе плоче, које су одговорне за даље осетљивост на *shear* стрес, чак и кад гликокаликс више није присутан. Ови процеси заједно доприносе целокупном одговору ендотелних ћелија на механичке промене у околини. Протеини плазме који се вежу за гликокаликс могу значајно утицати на локално окружење на више начина. Ова интеракција се може посматрати из различитих перспектива. Прво, вежање рецептора, ензима или њихових лиганда за гликокаликс може изазвати локално повећање концентрације ових супстанци. То може резултирати поремећајем адекватног сигнализирања или ензимске модификације, што има импликације на различите ћелијске процесе. Друго, везивање ензима или њихових агониста и инхибитора за гликокаликс може додати васкулопротективну улогу његовој

функционалности. Ово значи да гликокаликс може послужити као заштитни омотач који регулише интеракцију између ендотела и других супстанци у крви. У контексту антикоагулације, гликокаликс игра важну улогу. Неке од кључних медијатора антикоагулације се везују за гликокаликс. На пример, антитромбин III, снажан инхибитор прокоагулантних ензима попут тромбина и активираних фактора X и IX (FXa и FIXa), везује се за гликокаликс, посебно хепаран сулфат. Овај везивни процес појачава антикоагулантно деловање антитромбина III. Хепарин кофактор II је специфични инхибитор тромбина који се активира дерматан сулфатом из гликокаликса. Ово је још један пример како гликокаликс доприноси васкулопротективном окружењу. Тромбомодулин, који се синтетише од стране ендотелијалних ћелија, може претворити тромбин, прокоагулантни ензим, у активатор пута протеина Ц, што га чини антикоагулантним. Хондроитин-сулфат присутан у тромбомодулину везује се за гликокаликс и тако омогућава овој интеракцији. Такође, фактор инхибиције ткивног пута (TFPI), снажан инхибитор фактора VIIa и Xa, такође се везује за гликокаликс уз помоћ хепаран сулфата. Ова веза омогућава апсорпцију и разградњу TFPI-Xa комплекса, што зависи од хепаран сулфата присутног у гликокаликсу. Кроз ове различите молекуле антикоагулације присутне у гликокаликсу, ендотелијални слој постаје тромборезистентан, што је кључно за одржавање васкуларног здравља (98).

Инфузија 5% албумина и 6% хидроксетил скроба, природни и вештачки колоид, доводе до смањене екстравазације флуида, међутим, након 20 минута топле исхемије, само инфузија албумина спречава васкуларну екстравазацију. Ово наглашава важност интактне гликокаликса и улогу протеина плазминог порекла у функцији компетентне гликокаликса. Ревидирани *Starling*-ов принцип је обезбедио детаљнији увид у васкуларну пермеабилност и наглашава значај ендотелне гликокаликса као велике детерминанте. Наша је претпоставка да је раствор свеже замрзнуте плазме (СЗП) показао бенефите у смислу очувања интегритета зида ендотелних ћелија због високог садржаја албумина, глобулина као и осталих протеина плазме овог крвног деривата. У једном испитивању је сагледано 39 (32 дакронске и 7 тефлонских) синтетичких графтова коришћених за ревакуларизацију периферне артеријске болести, уклоњених у постоперативном периоду од 2 месеца до 18 година. Графтови су подвргнути хистолошкој и имунохистохемијској анализи. Почетно, унутрашња површина графта је прекривена тромбним масама које се организују и формирају гранулационо ткиво које поступно прелази у фиброзно ткиво. У том новоформираном ткиву уочавају се гигантске

ћелије, карактеристичне за реакцију на присуство страног материјала, а између тих ћелија се налазе протеини плазме. Код графтова старијих од 2 године, ово ткиво више не садржи тромбоците, већ се почињу везивати липиди. Идентификовани липиди укључују липопротеине који садрже аполипопротеин Б и фибриноген, који су распоређени на начин сличан ономе што се налази у артеријама промењеним атеросклерозом. Аполипопротеин Б и фибриноген такође се могу пронаћи у организованим или делимично организованим тромбним масама на старијим графтовима. Најстарији графтови показују знакове сужења крвног суда, калцификације и стварања анеуризми. Депозиција липида се повећава са старењем графтова и није специфична за врсту графта или допринос оклузији графта. Имунохистолошке анализе сугеришу да је овај процес тешко разликовати од праве атеросклерозе (99).

Потреба за адаптацијом венских графтова има свој узрок у хируршким поступцима везаним за узимање вена пре трансплантације. Приликом припреме графта, зид адвентиције вене често бива оштећен, посебно ако се наруши доток крви из васа васорум, мреже крвних судова која је иначе одговорна за снабдевање адвентиције крвљу. Овај поремећај доводи до ткивне хипоксије и недостатка храњивих материја у зиду крвног суда. Ови услови хипоксије и хипонутриције венског графта изазивају ослобађање инфламаторних цитокина, који играју кључну улогу у формирању неоинтималне хиперплазије. Већ током хируршке ресекције, цитокини попут *IL-6* и *IL-8* се ослобађају. Сматра се да је озбиљност оштећења адвентиције аутовенског графта директно повезана са степеном развоја неоинтима у самом графту. Разумевање овог процеса помаже идентификацији фактора ризика који доводе до нежељених адаптација графтова и отвара пут за истраживање стратегија за контролу ових механизма и побољшање дугорочне функционалности трансплантираних венских графтова.

Класификација догађаја који воде формирању неоинтима могу се поделити у 5 корака: 1) активација тромбоцита, 2) регрутација неутрофила и инфламација, 3) активација коагулационе каскаде, 4) миграција глаткомишићних ћелија и 5) пролиферација глаткомишићних ћелија.

Ендотелни гликокаликс има значајну улогу у модулацији инфламаторног одговора и пружању заштите крвним судовима. Ова функција се огледа у интеракцији с цитокинима, кључним молекулима у запаљењу. Гликокаликс се везивањем за цитокине може спречити њихово везивање за ћелијске рецепторе. Ово је кључно за регулацију

запаљења јер, умањивањем везивања цитокина за ћелијске рецепторе, ендотелне ћелије спречавају активацију сигналних путева који доводе до запаљења. Важно је напоменути да очување хепаран сулфата, једне од компоненти гликокаликса, има велики значај. Наиме, губљење хепаран сулфата, било услед ензимског разградњом или оштећења, повећава осетљивост ендотелних ћелија на активацију цитокинима. Ово значи да интегритет гликокаликса и хепаран сулфата посебно, игра кључну улогу у спречавању прекомерног инфламаторног одговора. Још један значајан аспект васкулопротективне улоге гликокаликса је његова способност да веже неутрализаторе слободних радикала, попут екстрацелуларне супероксид дизмутазе (*SOD*). Ови ензими имају улогу у смањењу оксидативног стреса, који је фактор ризика за оштећење ендотела. Кроз ову интеракцију, гликокаликс омогућава одржавање нормалног нивоа азот оксида, чиме се спречава дисфункција ендотела. Кроз све ове интеракције, ендотелни гликокаликс игра кључну улогу у заштити крвних судова од прекомерног запаљења и оксидативног стреса, одржавајући њихово здравље и функционалност. Гликокаликс, осим своје способности да регулише приступ различитим молекулима до ендотела, има још један значајан утицај на динамику интеракција у крвним судовима. Као прво, гликокаликс делује на понашање еритроцита у близини зида крвног суда. У микроциркулацији, може се реал-тимае уочити како еритроцити често избегавају директну интеракцију са ендотелном ћелијском површином. Ова специфична зона око ендотела, где еритроцити клизе и обилазе ћелије, постаје значајно сужена када се гликокаликс деградира, што се може пратити коришћењем посебних светлосних техника. Сличан принцип се примењује на интеракцију између тромбоцита и ендотелних ћелија. У нормалним контролисаним условима, овакве интеракције су ретке. Међутим, када се гликокаликс делимично уклони, обично као последица оксидације липопротеина ниске густине (*ox-LDL*), бележи се значајан пораст броја ових интеракција између тромбоцита и унутрашњости зида крвног суда. Важно је истаћи да гликокаликс има двоструку улогу у вези са интеракцијама леукоцита. С једне стране, у њему су присутни адхезиони молекули ендотелне ћелије, као што су П-селектин, Е-селектин, *ICAM-1* и *VCAM-1*. С друге стране, гликокаликс делује тако што смањује способност леукоцита да се вежу за ове молекуле. Овај двоструки ефекат има значајан утицај на даљи ток догађаја, нарочито када се разматрају венски графтови (96).

Присуство ендотелног гликокаликса релативно велике дебљине има велике последице на реологију, нарочито у микроваскулатури. Делује као да гликокаликс

модулира хематокрит и вискозност ово дела циркулације. Користећи физички модел базиран на хемодинамици и мерењу хематокрита у микроваскуларним мрежама ин виво, *Pries* и *Secomb* су демонстрирали да инкорпорирање реалних претпоставки о дебљини гликокаликса у свој модел реконструисаних микроваскуларних мрежа мезентеричних артерија доводи до двоструког повећања у вискозности крви (94,100).

Интересантно је да када изложимо ендотелне ћелије хумане умбиликалне вене дејству *shear* стреса, долази до значајног повећања количине хијалуронана у саставу гликокаликса. Ово може се посматрати као позитиван одговор ендотелних ћелија на дејство *shear* стреса. Истраживања која су анализирала везу између профила *shear* стреса и димензија гликокаликса на каротидној артерији миша доносе важне закључке. Профил са ламинарним протоком је коинцидирао са гликокаликсом чија је дебљина износила око $399 \pm 174 \text{ nm}$. Насупрот томе, турбулентан проток је резултирао много тањим гликокаликсом, посебно у синусном региону бифуркације каротидне артерије, где је дебљина гликокаликса износила $73 \pm 36 \text{ nm}$. Фасцинантно, део бифуркације са неометеним ламинарним протоком показао је дебљину гликокаликса сличну оној у заједничкој каротидној артерији, која је износила $308 \pm 185 \text{ nm}$. Ови подаци наговештавају да *shear* стрес игра кључну улогу у механотрансдукцији и да дебљина гликокаликса, барем делимично, зависи од снаге *shear* стреса којој је изложен. *Tarbel* и *Phakakis* (101) су закључили да су централни протеини гликокаликса одговорни за преношење сигнала *shear* стреса и њихову трансформацију у специфичне ћелијске процесе. Ово укључује стимулацију продукције азот монооксида (*NO*) и реорганизацију цитоскелета, чиме се ендотелне ћелије прилагођавају новим условима. Након уградње графта, ендотел, оштећен услед хируршког захвата, привлачи тромбоците готово тренутно, обично унутар првог минута. На месту овог ендотелног оштећења, изложеност субендотелном матриксу иницира процес везивања, агрегације и активације тромбоцита. У одговору на овај стимуланс, тромбоцити отпуштају различите цитокине и друге биореактивне супстанце. На пример, аденозин дифосфат (АДП) покреће синтезу арахидонске киселине, што резултира производњом тромбоксана А2. Овај молекул представља снажан хемоатрактант и фактор раста за глатке мишићне ћелије. Осим тромбоксана А2, неколико других фактора раста и цитокина играју улогу у овом сложеном процесу. То укључује факторе раста као што су фактор раста тромбоцита (*PGDF*), трансформирајући фактор раста бета (*TGF- β*) и цитокини као што су интерлеукин 1 (*IL-1*), интерлеукин 8 (*IL-8*) и тромбин. Сви ови молекули доприносе

агрегацији тромбоцита и активацији глатких мишићних ћелија у зиду вене. Ово указује на претпоставку да је агрегација тромбоцита кључна у покушају да се смањи формирање дебљине зида вене, што често прати хируршку имплантацију графта. Након што процес зарастања постане поремећен и формирање тромбних маса постане патолошко, мањи крвни судови као што су артериоле, капилари и посткапиларне венуле постају изложени већем ризику од потпуног зачепљења (оклузије) и тиме изазивања исхемије, што може довести до озбиљног оштећења ткива. Ова ситуација се обично јавља када унутрашњи пречник лумена крвног суда постане сужен због претеране формације тромба или тромбних маса. Ова суженост лумена смањује проток крви кроз ове мање крвне судове, што може имати озбиљне последице за околна ткива и органе. Недостатак адекватне опскрбе крвљу може узроковати исхемију, што је стање када ткива не добијају довољно кисеоника и хранљивих материја. Исхемија је чест узрок озбиљних проблема, укључујући ткивну некрозу (умирање ткива) и оштећење органа. Стога је одржавање нормалног протока крви кроз ове мање крвне судове од суштинског значаја за здравље и функцију ткива. Када се овај процес поремети, то може довести до озбиљних компликација и захтева хитно лечење како би се обновила нормална циркулација крви и спречиле дугорочне штете (102).

Интересантно је да је недавно спроведено истраживање које је указало на заштитни ефекат цилостазола, инхибитора ензима цикличне аденозин монофосфатне диестеразе типа III (*PDE-III inhibitor*), против развоја неоинтималне хиперплазије у моделу аутоvensког графта код пацова. Ова сазнања указују на потенцијално значајну терапијску стратегију за смањење нежељених промена у унутрашњем слоју крвних судова након хируршке интервенције, што би могло побољшати дугорочни успех таквих захвата (103).

Током прве недеље након имплантације, кључну улогу у адаптацији венског графта играју регрутација неутрофила и инфламаторни одговор. Овај период означава почетак процеса који ће касније обликовати судбину графта. Хронична инфламација зида венског графта се покреће активацијом тромбоцита на месту оштећења ендотела, што резултира експресијом адхезивних молекула. Неутрофили, врста белих крвних зрнаца, играју кључну улогу у овом процесу. Они се везују за површину ендотела, котрљају се по њој, и у исто време постају активирани због интеракције са лигандима као што су П-селектин и гликопротеин 1 (*PSGL-1*), које се налазе на површини ендотелних ћелија, и П-селектином присутним на тромбоцитима у околини. Овај рани

инфламаторни одговор представља почетну фазу у којој се имунолошки систем ангажује како би се носио са трауматским догађајима услед имплантације графта. Разумевање овог процеса је од суштинског значаја, јер може помоћи у развоју стратегија за контролу упале и смањење нежељених реакција на графт, што би могло унапредити дугорочни успех ових медицинских интервенција (104).

Имуне ћелије имају врло битну улогу у одржавању крвних судова и обављају различите виталне функције у организму. Без обзира на разноликости међу њима - у погледу величине лумена, еластичности, састава зида, те дебљине медије и адвентиције - сви крвни судови деле заједнички фактор: унутрашњи слој ендотелних ћелија. Васкуларни ендотел, заправо, чини сложен и хетероген слој појединачних ћелија који прекрива унутрашњост крвних судова и лежи изнад екстрацелуларног матрикса богатог колагеном. Дуг низ година, ендотел је сматран пре свега као физичка баријера која раздваја циркулишућу крв од околног ткива. Међутим, данас схватамо да је његова улога знатно дубља и сложенија. Ендотел се сада препознаје као комплексан и биоактиван слој ћелија који регулише различите кључне процесе у организму. То укључује регулацију функције имуних ћелија, контролу приступа ткиву, управљање вазореактивношћу крвних судова, и омогућавање проласка макромолекула, хормона, растворених супстанци и течности. Посебно је значајно нагласити да очување здравља и структурног интегритета ендотелних ћелија има суштинску улогу у разним патолошким процесима. То обухвата хроничне инфламаторне болести и тромбогенезе, укључујући и озбиљне стања попут дијабетеса и атеросклерозе. Оштећење ендотела не само да покреће ове процесе, већ их и одржава, пружајући платформу за брзу реакцију на тромбозу током поремећаја равнотеже хемостазе, као и за фиброзну реакцију током патолошког процеса зарастања. Разумевање ове сложене динамике има дубоке импликације за развој стратегија за заштиту крвних судова и превенцију озбиљних обољења која су повезана са ендотелом (105).

Реолошке промене у околини често се детектују и преносе путем гликокаликса на околне ендотелне ћелије, уз посредовање актинског цитоскелета и интегрина. Актински цитоскелет и гликокаликс су у динамичној равнотежи, где сваки од њих модификује своју структуру у одговору на промене у другом, како би се одржале карактеристике ендотелне баријере. Механички стрес, посебно физичко истезање и поремећен проток крви, показао се као значајан фактор у модификацији синтезе гликозаминогликана и протеогликана, и ремоделовању васкуларних ендотелних ћелија. Ово нам даје увид у то

како патолошко истезање и поремећени проток крви могу утицати на понашање и функцију ендотелних ћелија. Након излагања физичком стресу, локалном или системском инфламаторном догађају, ендотелне ћелије могу показивати знаке ендотелне дисфункције. Ендотелна дисфункција је комплексна појава карактерисана повећаном продукцијом слободних радикала (*ROS*), поремећајем производње азотног оксида (*NO*) и регулацијом васкуларног тонуса. Осим тога, ендотелна дисфункција може укључивати промене у металопротеиназама матрикса (*MMP*) и повећану продукцију проинфламаторних цитокина. Такође, могу се појачано производити адхезиони молекули као што су Е-селектин, П-селектин и интерцелуларни адхезиони молекул 1 (*ICAM-1*). Разумевање ових сложених механизма може помоћи у бољем разумевању како физички стрес и инфламација утичу на функцију ендотела, и отворити пут за развој терапеутских стратегија за очување здравља крвних судова и превенцију васкуларних обољења (106).

Као облога која прекрива унутрашњост крвних судова и служи као заштита од циркулишућих компонената крви, метаболита и имуних ћелија, васкуларни ендотел често се сматра првом линијом одбране током инфламаторних процеса. Један од кључних извора инфламације у ендотелу је повећана производња слободних радикала (*ROS*), а узроци овог феномена могу варирати од исхране до хормонских дисбаланса, па чак и присуства ћелијских остатака насталих током процеса апоптозе и присуства страних супстанци које се метаболизују од стране макрофага. Повећана производња слободних радикала (*ROS*) може имати озбиљан утицај на функцију ендотела. На пример, може довести до инактивације азотног оксида (*NO*), који се сматра важним медијатором регулације тонуса крвних судова. Смањен ниво азотног оксида повећава крутост и контрактилност зидова крвних судова, што су фактори који придонесе дисфункцији ендотела. Парадоксално, прекомерна продукција азотног оксида (*NO*) такође може довести до ћелијске инфламације и апоптозе. Ово наглашава колико је кључно одржавати пажљиву контролу хомеостазе ендотела како би се очувала функција крвних судова. Разумевање ових сложених интеракција доприноси развоју стратегија за очување здравља ендотела и спречавање поремећаја у васкуларном систему (107). Код оштећених крвних судова, немогућност обнављања ендотелног слоја здравим ћелијама има за последицу *circulus vitiosus* бесконачне инфламације. Чак и ако евентуално дође до реендотелизације, новонастали гликокаликс је често врло фрагилан и мање респонсиван на *shear stress*, што значи да је мање способан за правилно реаговање на силе које се

јављају током протока крви. Ово га чини подложним стању хроничне инфламације. Надаље, погоршање дисфункционалног стања води до тога да циркулишући тромбоцити почињу да се вежу за колаген који се нормално налази испод слоја ендотелних ћелија, али постаје изложен услед контракције ових ћелија или након оштећења слоја ендотелних ћелија. У неким ситуацијама, тромбоцити који се прилепе изазивају низ догађаја који промовишу фиброзу, укључујући регрутацију леукоцита путем тромбоцита, лучење фактора раста ткива и таложење фибрина и фибриногена. Овај сложени процес показује како оштећени крвни судови могу постати место упале, тромбозе и промоције фиброзе. Разумевање ових механизма помаже у развоју стратегија заштите васкуларног система и превенцију озбиљних патолошких промена (108).

Ћелије ендотела које су дисфункционалне су добро познати покретачи фиброзе. Када се суоче са негативним стимулусима као што су повећане количине слободних радикала (*ROS*) или физичко оштећење, ове дисфункционалне ендотелне ћелије почињу да луче низ проинфламаторних цитокина, укључујући *TNF- α* , *IL-1 β* и *IL-6*. *TNF- α* је један од кључних фактора који покреће сигналну каскаду која на крају може довести до апоптозе или некрозе ендотела. У таквим условима, гликокаликс преосталих ендотелијалних ћелија може почети да се оштећује, откривајући повећан број селектина и лиганата који се налазе на површини мембране ендотелијалних ћелија. У венулама, селектини играју кључну улогу у иницијалном везивању неутрофила, што постаје место секундарног везивања тромбоцита. Ово је сложен процес који може довести до даљег оштећења ендотела и промовисати упалне и тромботске догађаје. Разумевање ових механизма је од суштинског значаја за развој стратегија заштите васкуларног система и превенцију хроничних болести (109).

Значајно је да прелазак венског графта у артеријску средину, која је обилује већим схеар стресом на зид, може озбиљно оштетити ендотелијални слој. У раној фази адаптације, ниске физиолошке концентрације азотног оксида (*NO*) играју кључну улогу у очувању идентитета венског графта и штите зид крвног суда од инфламаторног одговора, вазоактивних супстанци које се луче од стране тромбоцита и опуштања глатких мишићних ћелија. Ови физиолошки ниски нивои *NO* се производе од стране здравих ендотелних ћелија помоћу ензима *eNOS* у условима ниског схеар стреса вена. Међутим, у артеријским условима, где је схеар стрес много већи, хомеостаза венског ткива нарушава се, што доводи до оштећења ендотелних ћелија и поремећаја продукције

NO. Важност улоге *NO* у ограничавању развоја неointималне хиперплазије потврђена је на експерименталном моделу прекомерне експресије *eNOS* на моделу зеца. Ови сазнања указују на значај разумевања како *shear stress* и продукција *NO* утичу на судбину венских графтова у артеријском окружењу, те на могућности за развој терапијских приступа који ће побољшати дугорочну функцију артеријских графтова (110). Оштећење ендотела такође активира коагулациону каскаду. Формирање тромба на месту оштећеног ендотела венског графта доприноси не само промоцији реактаната акутне фазе већ и формирању интималне хиперплазије ендотела венског графта. Развој интималне хиперплазије је комплексан процес у коме кључну улогу имају саме глаткомишићне ћелије, али и ћелије ендотела. Интимална хиперплазија је дуготрајно стање карактеризирано активацијом глатких мишићних станица медије венског графта, које прелазе из мировања у фазу пролиферације. Овај процес резултује њиховом променом фенотипа у миграторни не би ли мигрирале у интиму, где се убрзо започиње њихова интензивна пролиферација, што даље доводи до задебљања интима. Важно је напоменути да је функција глатких мишићних ћелија у зиду сафенског графта и њихова интеракција с ендотелним ћелијама кључна за одржавање нормалног васкуларног тонуса, регулацију ћелијске пролиферације и одговор на инфламацију. У здравом стању, ова интеракција између ендотелних и глатких мишићних ћелија одржава потоње у стању мировања. То се постиже путем лучења хомеостатских молекула као што је азотни оксид (*NO*). Азотни оксид помаже у регулацији тонуса медијалног слоја крвног суда и сузбија промјене у фенотипу глатких мишићних станица, спречавајући њихов прелазак у фазу пролиферативне синтезе (111).

Суочавање с неравнотежом у овој интеракцији између ендотелних и глаткомишићних ћелија игра кључну улогу у развоју интималне хиперплазије, што даље има значајне последице за функцију и дугорочни успех венских графтова. Разумевање ових механизма отвара врата за развој стратегија које би могле сузбити ову патологију и побољшати дугорочну одрживост графтова. Након почетне денудације ендотелног слоја, нове ендотелне ћелије постају видљиве већ у првој недељи након операције, што је потврђено на експерименталном моделу. Међутим, упркос обнови ендотелног слоја, интимална хиперплазија се не повлачи. Овај феномен делимично произлази из повећаног деловања *shear stress* на зид крвног суда, што резултира дисфункционалним новим ендотелом. Осим тога, присутност већ естаблираног хроничног упалног одговора такођер доприноси овом стању. Хронично повећање *shear stress* на зид крвног суда узрокује не

само оштећење нових ендотелних ћелија већ и њихову дисфункцију. Истовремено, присутност хроничне упале одржава нарушену хомеостазу у том подручју, што даље придноси интималној хиперплазији (112).

Након активације ћелија ендотела, долази до ослобађања *Weibel-Palade*-ових телашца на површину мембране. Ова телашца представљају секреторне грануле у којима се складиште адхециони лиганди тромбоцита - П-селектин и *vWF (Von Willebrand)*. Када ови адхециони лиганди дођу на луменску површину ћелија ендотела, они привлаче додатне циркулишуће неутрофиле и тромбоците. Овај процес, као у зачараном кругу, додатно стимулише ћелије ендотела. У регионима гдје је ендотелни слој денудирани, ова регрутација циркулишућих ћелија може бити корисна за процес зарастања. Међутим, када измакне контроли, може довести до иреверзибилне фиброзе. Важно је напоменути да је балансирање ових процеса кључно за одржавање здравља крвних судова, посебно након оштећења и денудације ендотела. Разумевање ових динамика помаже у развоју стратегија за контролу ових процеса у контексту хируршких интервенција и терапије (113).

Миграција неутрофила дуж активираниог ендотела представља један од раних корака у процесу резолуције акутне инфламације. Међутим, уколико ова акумулација неутрофила није контролисана на одговарајући начин, може резултирати преласком у стање хроничне инфламације. Екстравазирани неутрофили постају активирани када дођу у додир са протеинима екстрацелуларног матрикса, што може довести до оштећења и ремоделовања околног ткива. Овај процес је посебно уочљив у случајевима као што је атеросклероза. Претерана активација неутрофила, њихова дегранулација и оксидативни стрес узрокују озбиљно оштећење околног ткива. То се, делом, догађа због отпуштања металопроотеиназа матрикса (*MMP*) које разграђују екстрацелуларни матрикс, токсичних слободних радикала и проинфламаторних цитокина који активирају и привлаче друге имуне ћелије, укључујући макрофаге и Т-лимфоците. Додатно, миофибробласти реагују на деградацију матрикса и започињу процес репарације, што резултира стварањем густог, неорганизованог фибротичног ткива (114).

Разумевање ових сложених интеракција је од суштинског значаја за контролу процеса инфламације и репарације у контексту различитих патолошких стања, као и за развој одговарајућих терапијских стратегија. Неутрофили, тромбоцити и активирани ћелије ендотела дају свој допринос покретању у одржавању васкуларне дисфункције. Многа истраживања су спроведена не би ли се установио допринос настанку тромбозе и

фиброзе сваког од поменутих учесника. Активација ендотела започиње лучење проинфламаторних цитокина и крзање компонената гликокаликса што доводи до регрутације циркулишућих тромбоцита и неутрофила. Адхезија ових регулатора инфламације покреће зачарани круг активације још тромбоцита и још неутрофила што превазилази капацитет крвног суда за зарастањем и мења миље у тромботични или фибротични. Ухваћени и котрљајући неутрофили се само надовезују на већ пропуштајући ендотел који приказује тачке екстравазације који омогућују митрацију неутрофила у околно ткиво. Активација неутрофила мења начин активације ендотела ослобађањем продуката дегранулације и, у нејтежим случајевима, *NET* формација. Током озбиљног оштећења крвних судова, смрт ћелија ендотела или денудација унутрашњег слоја крвног суда доводе до излагања колагеном богатог екстрацелуларног матрикса. Као одговор на ово, циркулишући тромбоцити се брзо везују за овај матрикс и активирају се како би створили тромбоцитни чепић. Овај чепић је кључан за очување хемостазе унутар повређеног крвног суда. Међутим, у неким ситуацијама, посебно у присуству патолошке упале, имуне ћелије могу пореметити овај нормални хемостатски одговор и претворити га у тромботски одговор. Унутар хемостатског тромбоцитног чепића, постоји густо паковање тромбоцита обогаћених П-селектином, окружених растреситијом групом тромбоцита без П-селектина. Ови потоњи тромбоцити минимално су активирани и смештени ближе лумену крвног суда. Овај комплексни однос између тромбоцита, ендотела и имуних ћелија има дубоке импликације за разумевање хемостазе и патолошких промена у којима је поремећена равнотежа између нормалног хемостатског одговора и патолошког тромботског одговора (115).

Имуне ћелије које се привлаче ради поправка ткива могу заправо додатно погоршати оштећење уколико инфламаторни стимулус не престане. Активирани неутрофили, тромбоцити и неутрофилно-тромбоцитни комплекси су добро познати сарадници у развоју фибрози у плућима и кардиоваскуларним обољењима. Иако обично нису главна фокусна тачка у процесу фиброзе, поремећај регулације акумулације тромбоцита и неутрофила има кључну улогу у регулацији неправилних промена у ткиву . Активирани тромбоцити луче значајне количине хемокина који делују као хемотактички сигнали на неутрофиле и моноците, привлачећи имуне ћелије да се усмере ка месту оштећења. Овај процес активира те ћелије, што доводи до продукције додатних цитокина и ензима. Ти цитокини и ензими даље подстичу производњу *TGF- β* , који је кључни медијатор у формирању миофибробласта, депозицији колагена и развоју

фиброзе. Ово сложено међусобно деловање имуних ћелија, тромбоцита, и миофибробласта игра кључну улогу у патофизиологији фибротичних обољења (116). Јака активација ендотела излаже крвотоку колагеном богат екстрацелуларни матрикс, што даље олакшава активацију и приањање тромбоцита. То се постиже повећањем броја молекула П-селектина. Када су тромбоцити активирани и везани за ендотел, такође експримирају П-селектин на својој мембрани. Ово може послужити као место окупљања за друге тромбоците и као подручје секундарне активације циркулишућих неутрофила. Акумулација тромбоцита или комплекса тромбоцит-неутрофил може резултирати тромбозом крвних судова. У крвним судовима који су подложни фибрози, активација тромбоцита стимулише продукцију профибротичног цитокина *TGF-β*. Осим тога, активација тромбоцита може довести до секреције патолошког екстрацелуларног матрикса и, коначно, фиброзе. Ови процеси су кључни у разумевању како се активација ендотела и тромбоцита одражавају на патолошке промене у структури и функцији крвних судова (117). Сви наведени механизми који се активирају и одвијају на површини ендотелних ћелија неминовно воде у атеросклерозу венског графта. Атеросклероза је знатно бржи процес у аутоvensким графтовима у поређењу с природним артеријама, углавном због успореног процеса липолизе у графту и брзог таложења липида. У поређењу с атеросклеротским плаковима у природним артеријама, плакови у аутоvensким графтовима обично садрже значајно више пенастих ћелија и других инфламаторних ћелија, укључујући мултинуклеарне гигантске ћелије. Овај састав сугерише да неке од ових ћелија потичу из глатких мишићних ћелија сафенске вене, а не из околног ткива. Овај фактор постаје кључан у објашњењу брзе прогресије и озбиљности атеросклерозе у аутоvensким графтовима. Проучавање ове интеракције помаже у разумевању механизма који доприносе атеросклерози у аутоvensким графтовима и отвара врата за истраживање стратегија за њено успоравање и спречавање, чиме би се побољшала дугорочна функционалност трансплантираних венских графтова (118).

Упркос све популарнијој тоталној артеријској реваскуларизацији у коронарној хирургији, аутоvensки графт, да ли због потребе или заслуга, задржава своје место. Ако узмемо у обзир претходни податак да се тек 5-10% пацијената подвргавају *TAR (Total Arterial Revascularization)* процедурама и податак да је просечни број графтова по пацијенту 3.1 долазимо до податка да се годишње уради најмање 1 000 000 процедура у којима се користи бар једна сафенска вена, а овај број графтова је засигурно много већи

(1). Разлог овако широке употребе овог графта је његова доступност, лакоћа препарације и лакоћа манипулације за време саме операције. Такође не треба занемарити његову версатилност и вредност при креацији композитних кондуита у случају недостатка дужине артеријског графта, као и могућност коришћења као *patch*-а на аорти на месту креације проксималне анастомозе због мисматч-а између слободног артеријског графта и асцендентне аорте. Постоји више терапијских стратегија за борбу против дисфункције ендотела. Један од битних фактора успеха аортокоронарног бајпаса је вијабилност ћелија ендотела графта и њихов структурни интегритет. Ова хомеостаза се физиолошки одржава уз помоћ врло прецизног и осетљивог баланса између прокоагулантних и антикоагулантних ензима крви, крвних елемената и вазоактивних својстава здравог ендотела. У артеријском систему, много чешће него у венском, долази до поремећаја ове равнотеже, па се мора деловати, боље превентивно него фармаколошки, не би ли се прекинуо зачарани круг инфламације, атеросклерозе и онемогућила њихова бескрајна међусобна стимулација. Најчешће употребљаван графт у коронарој хирургији, вена сафена магна прелази понекад трновит пут, из система ниских притисака, са мноштвом својих валвула које јој помажу да га се додатно растерети, преко хируршких руку и инструмената, лигатура, клипсева и додатних шавова, хипоксије, исхемије и реперфузије, раствора који могу да донесу више штете него користи, до поновног сусрета са крвљу у систему високих притисака, шеар-стреса, пулзатилног протока и повремено неодговарајућег дисталног корита. Свака врста помоћи овом кондуиту који обично спаја асцендентну аорту са једним од најважнијих артерија у људском организму је добро дошла. Да ли је та вена графтована отвореном класичном хируршком техником, у новије време све популарнијом *no-touch* методом или уз помоћ минимално инвазивне ендоскопске методе, скелетонизована или педиклована, уз помоћ хепаринизованог физиолошког раствора, хепаринизоване венске или артеријске крви, *St. Thomas I, II* или *Bretschneider*- овог, раствора плазме или хуманих 5% албумина, на +5C, +15C или на телесној температури, своди се на исто: резултат процеса мора бити позитиван по пацијента. У преводу, треба избећи бесконачни зачарани круг инфламације ћелија ендотела, њихове масовне апоптозе, денудације колагеном богатог екстрацелуларног матрикса на коме су оне удобно смештене и инвазија њихових скелета или домова ћелијама имуног система, терајући их да, штитећи организам сам од себе, начине штету крвном суду и органу који он реваскуларизује. Овај први контакт врло често може да буде пресудан. Ако се подсетимо да се подаци опроходности аутоvensких графтова драстично разликују од истраживања до истраживања, можемо да закључимо да, осим

индикација за реваскуларизацију, периферног отпора у дисталном кориту и хируршке технике сачињавања анастомоза од великог значаја може да буде избор презервационог раствора који и те како има утицај на стање ткива свих слојева венског графта (119).

Уколико дође до топле исхемије графта у току његове презервације, онда ће његов следећи сустрет са крвљу да доведе до класичне слике исхемијско-реперфузионе повреде и зарастања на терену тромбозе што може да доведе до последичне фиброзе самог зида графта и хиперплазије ендотела, што је чести узрок стенозе аутоvensког графта у првој години постоперативно. Дисфункција венског графта се јавља код великог броја кондуита коришћених приликом хируршке реваскуларизације миокарда. Прегледом патофизиологије, инциденце, и клиничких последица у литератури долази се до закључка да не постоји један узрок, већ је у питању мултифакторијални феномен. Дисфункција ендотела, вазоспазам, оксидативни стрес, и тромбоза су различити механизми који се доводе у везу са дисфункцијом венског графта (120). Интринзичке морфолошке и функционалне карактеристике венског графта играју кључну улогу у његовој дуговечности, али ништа мање битну од карактеристика коронарног крвног суда, као што су степен стенозе, дијаметар крвног суда, претходне ендоваскуларне интервенције, степен атеросклеротске измењености и периферни отпор. Све ове променљиве треба узети у обзир приликом прављења стратегије реваскуларизације. Креација анастомоза, техника препарације, врста презервационог раствора су само неки од састојака успешног графта на које се може утицати избором, док постоје непроменљиви фактори који су одређени природним поретком, као што су пол, године старости, метаболички фактори, хипертензија, дислипидемија, а повезани су са дисфункцијом венског графта. Дисфункција графта не корелира увек са клинички забележеним догађајима, а варијација се јавља у односу на тип, локацију и разлог дисфункције венског графта. Интраоперативна верификација протока и секундарна превенција у виду антиагрегационе и антилипидне терапије може да смањи инциденцу дисфункције графта. Примарни циљ хируршке реваскуларизације миокарда је дуготрајна функционалност графта. Дисфункција графта представља комплексни, мултифакторијални догађај који се јавља код великог броја графтова (13). У једном истраживању, обухваћено је 44.951 пацијент и анализирани су подаци о клинички вођеној ангиографији. Резултати показују да је ангиографија извршена код 10,1%, 7,9% и 7,1% пацијената у року од 3 године, и код 23,6%, 20,0% и 17,5% пацијената у року од 10 година након хируршког захвата. Када су искључене прве 3 постоперативне године,

није пронађен ниједан неуспео сафенски венски графт у више од 75%, 60% и 45% случајева, редом, када је ангиографија извршена у првих 10 година након хируршког захвата. Ови подаци указују на успешност и трајност сафенских венских графтова код великог броја пацијената. Важно је напоменути да су ови резултати добијени на основу клиничког праћења и ангиографске анализе, и да нису забележени случајеви неуспеха сафенских венских графтова након првих 3 године постоперативног периода. Ово истраживање пружа важне информације о успешности и дугорочном исходу хируршких захвата на срцу код великог броја пацијената. (121).

Иако су интимална хиперплазија и минорна стеноза графта често запажене приликом ангиографских испитивања годинама након операције, околности у којима ови фактори који доприносе раној и касној оклузији остају нејасни. Заказивање графта догађа се код великог броја кондуита и не постоји један разлог већ је овај проблем мултифакторијалан. Не постоји једна дефиниција овог термина која се разликује од истраживања до истраживања, а може се односити на тромбозу графта, интималну хиперплазију или атеросклеротску болест графта које доводе до сужења лумена или комплетне оклузије графта (76).

Поремећаји протока могу да буду узроковани хируршком техником (проксимална анастомоза, дужина графта, дистална анастомоза (неадекватна техника или одабир места анастомозе), дистензија графта, неадекватна техника харвестинга, неадекватан презервациони раствор), анатомијом неодговарајући лумен вене коронарној артерији који може бити превелики или премали па долази до *mismatch*-а између коронарне артерије и аутоvensког графта, превелики периферни отпор у ткиву) или неадекватном индикацијом за бајпас. Обзиром да се процена стенозе врши визуелно од стране инвазивног кардиолога и кардиохирурга, може доћи до погрешне процене степена стенозе и конкуренције протока између аутоvensког графта и нативног коронарног протока (57).

Hwang и коаутори спровели су истраживање које је истраживало ефекат различитих метода препарације сафенске вене за употребу у Y-композитном графту, када се комбинује са левом унутрашњом торакалном артеријом. Истраживање је упоредило две технике препарације: једна је укључивала минималну манипулацију сафенске вене, док је друга укључивала мануелну дилатацију током препарације сафенске вене. Резултати су показали да је примена технике минималне манипулације при препарацији

сафенске вене допринела очувању ендотелне структуре и функције у поређењу са узорцима код којих је примењивана мануелна дилатација током препарације. Ови налази наглашавају предности минималних манипулација при препарацији сафенске вене, што може допринети бољем функционисању сафенског венског графта када се користи у комбинацији са левом унутрашњом торакалном артеријом у Y-композитном графту. Овакво истраживање може имати значајне клиничке импликације у подобравању квалитета и успешности хируршких процедура на срцу, као и у смислу бољег дугорочног исхода за пацијенте. (122). Истраживање спроведено од стране *Nowicki* и колега имало је за циљ да испита везу између очувања интегритета ендотела графтова великих сафенских вена и различитих метода узорковања венских графтова, користећи минимално инвазивну хирургију у поређењу с конвенционалним методама. У истраживању учествовало је 200 учесника, а методологија је укључивала обележавање антигена ендотела *CD31* и азот оксид синтазе (*NOS*) имунохистохемијским бојама. Резултати су показали да је очување интегритета ендотела било знатно боље код графтова који су сакупљени минимално инвазивном хирургијом у поређењу с конвенционалним методама. Очуваност интегритета, измерена преко *CD31* имунохистохемијског обележавања, била је просечно $82\pm 13\%$ код графтова сакупљених минимално инвазивном хирургијом, за разлику од просечних $64\pm 15\%$ код графтова сакупљених конвенционалним путем. Додатно, анализа *NOS* имунохистохемијског боја показала је значајно виши интегритет ендотела у случају графтова сакупљених минимално инвазивном хирургијом ($96\pm 4\%$) у поређењу са графтовима сакупљеним конвенционалним методама ($74\pm 10\%$). Ови резултати указују на потенцијално важан фактор у подобравању процента проходности сафенских венских графтова, истичући предности минимално инвазивних метода у узорковању. Очување интегритета ендотела може имати значајану улогу у подршци успешности хируршких процедура на срцу и бољим исходима за пацијенте. (123).

Krishnamoorthy et al. су извршили прву упоредну анализу резултата имунохистохемијског обележавања ендотелних маркера *CD31* и *CD34* у циљу добијања поуздане визуализације оштећења ендотела тунике интима великих сафенских вена. У истраживању, десет узорака великих сафенских вена је биопсирано од десет пацијената који су били подвргнути конвенционалној отвореној венотомији. Ови узорци су затим обрађени хистотехнолошки и имунохистохемијски обележени на антигене *CD31* и *CD34*. Резултати истраживања показали су значајне разлике у обрасцима експресије између

CD31 и *CD34*. *CD34* је показало статистички виши степен хромогене сатурације, интензитета и степена дистрибуције у поређењу са *CD31*. Ови налази упућују на то да је употреба *CD34* за изучавање интегритета ендотела значајно погоднија од употребе *CD31*. У закључку, аутори истичу важност избора правилног ендотелног маркера у проучавању ендотела вена. У овом случају, *CD34* је идентификован као предпочећени маркер за анализу интегритета ендотела тунике интима великих сафенских вена у односу на *CD31*. Овакви резултати имају значајне импликације за боље разумевање и процену здравља венских графтова у хирургији на срцу. (124).

Истраживања у којима су постоперативно праћени и поређени аутовенски бајпасеви где је индикација за бајпас била вредност *FFR* (*Fractional Flow Reserve*) ≤ 0.80 и ≤ 0.75 су показала много мањи проценат стеноза (5% према 21%) него код бајпасева са већим вредностима *FFR* (125). Такође постоје студије о корелацији постмортем процена степена стеноза коронарних артерија са визуелним проценама степена стеноза на коронарографијама. Постоје студије које показују добру, као и оне које показују дистално потцењивање стеноза коронарних артерија, као и оне које показују проксимално прецењивање стеноза. Величина лумена коронарне артерије је још један од фактора који утиче на дуготрајну патентност графта. Након 10 година патентност аутовенског графта је 88% на крвним судовима са луменом већим од 2mm, док је само 55% код оних са луменом мањим или једнаким 2 mm (126). Након што се венски графт пресади у артеријску циркулацију, одмах је изложено снажним пулсирајућим силама растезања и *shear stress* дуж зида. Добро је познато да ове силе често доводе до апоптозе ћелија ендотела, али не и до њихове накнадне пролиферације. На неким експерименталним моделима у којима се примењује спољна подршка графту, успела је спречити оклузија графта путем директног смањења сила растезања зида. Ова сазнања указују на значај разумевања како механички фактори утичу на судбину пресађеног венског ткива у артеријском окружењу и пружају нове могућности за развој метода које ће побољшати дуготрајну функцију артеријских графтова (127). Да ли се ради о тромбози, стенози или оклузији графта зависи од временског периода постоперативно о коме говоримо, па је тако у првих месец дана најчешћи узрок оклузије графта тромбоза. У првој години постоперативно најчешћи узрок оклузије графта је неоинтимална хиперплазија која прогресивно, циркуларно доводи до смањења лумена графта све до његове оклузије. Након прве године са наставком развоја креће атеросклероза графта која се по карактеристика плака и брзини прогресије разликује од атеросклерозе

нативних артеријских крвних судова. У временском периоду од препарације до креирања анастомозе, аутовенски графтови се чувају у неком од раствора специфично дизајнираних не би ли се очувао интегритет ендотела, који представља једину баријеру између имуних ћелија крви и интима кондуита. Хепаринизирани 0.9% раствор *NaCl* и хепаринизирана аутологна крв се традиционално користе за презервацију графтова. Иако су погубни ефекти физиолошког раствора по ендотел одавно познати, нема објављених рандомизованих контролисаних студија на ту тему, већ је већина података доступна из ин витро студија, како је баш 0-9% физиолошки раствор један од најкоришћенијих у ову сврху, сврстан је у ово истраживање. Примарна претпоставка је била да је овај раствор инфериоран у односу на све остале из истраживања, али се показало да, упркос ширем дијапазону минималних и максималних вредности параметара испитивања, не постоји статистички значајна разлика у односу на аутологну хепаринизирану крв (128).

Развијено је неколико пуферских раствора за презервацију као што су презервациони раствор из Висконсина, ХТК (Хистидин, Триптофан, Кетоглутарат) раствор, *TiProtec* и Глутатион-Аскорбинска киселина (ГАЛА) раствор. Сви ови раствори садрже јоне, антиоксиданте, и молекуле са високом молекуларном тежином који праве бољи јонски баланс и стварају *pH* средину која више личи физиолошкој средини. *In vitro* студије показују супериорну функционалну и структуралну презервацију ендотела уз употребу пуферских раствора за презервацију. ГАЛА раствор садржи глутатион, аскорбинску киселину и Л-аргинин, који је супстрат за *NO* (азот оксид). Повезује се са бољим ћелијским интегритетом, мобилизацијом калцијума и продукцијом *NO* у односу на хепаринизирани физиолошки раствор и аутологну хепаринизирану крв. *Harskemp at al.* су демонстрирали маји степен оклузије аутовенских графтова уз употребу ГАЛА раствора у односу на хепаринизирани физиолошки раствор и аутологну хепаринизирану крв уз мањи *MACE* након 5 година (129). Представник ове класе раствора у овом истраживању је *Bretschneiderov* ХТК раствор који је дао статистички инфериорније резултате у очувању интегритета ендотела велике сафенске вене у односу на остале коришћене растворе без статистички значајне разлике у времену субмерзије узорака и температури раствора. За сваки аортокоронарни бајпас потребан је бар један кондуит али је просечни број бајпасева 3.1 по пацијенту. Ови графтови се хируршком препарацијом одвајају од околног ткива, гране подвезују лигатурама или клипсевима, потом се испирају и складиште макар на кратак временски период између провере и креирања анастомозе, за разлику од артеријског графта који се оставља *in situ*

или умотан у газу и испрскан топлим физиолошким раствором са Нирмином или папаверином (130).

Истраживање које је сprovedено од стране *Marin-a* и коаутора представља значајне резултате у вези са ризиком од симптоматске оклузије графта услед болести венског графта у периоду од 10 година након операције. Укључено је 10 година следећих пацијената који су били подвргнути конвенционалној отвореној венотомији, а истраживање је пружило процену ризика и перспективе у вези са заменом сафенских венских графтова супериорним графтовима. У случају једне дисталне анастомозе сафенским венским графтом, смртност у току првих 30 дана износила је 0,95%, а током следећег праћења забележена је код 42,4% пацијената. Преживљавање после 3, 10 и 20 година било је 94,7%, 77,1% и 39,8%, редом. У случају две дисталне анастомозе, смртност у току првих 30 дана износила је 1,1%, а током следећег праћења забележена је код 47,3% пацијената. Преживљавање после 3, 10 и 20 година било је 94,2%, 74,2% и 34,6%, редом. У случају три дисталне анастомозе, смртност у току првих 30 дана износила је 1,0%, а током следећег праћења забележена је код 49,4% пацијента. Преживљавање после 3, 10 и 20 година било је 94,2%, 73,0% и 31,4%, редом. Очекивано преживљавање за узраст и пол из опште популације након 3, 10 и 20 година након операције било је 94,1%, 74,7% и 32,6% за једну дисталну анастомозу, 93,6%, 72,5% и 29,2% за две дисталне анастомозе, и 93,2%, 70,9% и 26,3% за три дисталне анастомозе. Ови резултати пружају важне информације о преживљавању и ризицима повезаним са различитим методама хируршких захвата на срцу. (131).

Када се пореди са другим сферама интересовања у коронарној хирургији, само мали број студија сагледава оптималне услове за складиштење аутоvensких графтова за време операције. Резултати ових испитивања остају контрадикторни уз фокус на две супстанце: хепаринизирана аутологна крв и 0.9% *NaCl* раствор. Упркос континуираном напретку у пољу перкутаних коронарних интервенција, коронарна хирургија остаје камен темељац реваскуларизације. Сафенска вена ће као супстрат за кондуите задржати своје место у коронарној хирургији, али су њена употреба и патетност предмет сталне дебате. Тотална артеријска реваскуларизација стиче све већу популарност и све се више примењује широм света (132). Постоји више разлога за оклузију аутоvensког графта на дуге стазе, нарочито интимална хиперплазија, атеросклероза графта или хиперплазија глаткомишићних ћелија. Улога иницијалне трауме током препарације графта није у потпуности расветљена. Стање аутоvensког графта пре креирања анастомозе је од

великог значаја. 24 сата унутар имплантације, ћелије ендотела су се нашле у средини између артеријског притиска и shear stress-а циркулације са једне стране и субендотелних полиморфонуклеоцита уз депозицију тромбоцита на своју луминалну површину. Као додатак на све то, постоји екстензивни субендотелни едем који се чини као комбинација исхемијско-реперфузионе потпоре, повећаног трансмуралног инфлукса и оштећења услед дистензије графта, а због тога што се сада налази у средини са системским артеријским притиском. Под *in vitro* условима пролиферација глаткомишићних ћелија се дешава у оквиру првих 72 сата и наставља се најмање 7 дана након укључивања графта у циркулацију (133).

Болест сафенског венског графта је компликација која може настати као резултат хируршког захвата познатог као бајпас коронарних артерија. Ова васкуларна болест има значајан утицај на ефекат ревакларизације миокарда како у кратком, тако и у дугом року. Такође, повећава ризик од важних негативних кардиоваскуларних догађаја. Важност идентификације пацијената са поголеним ризиком и примена превентивних и терапијских мера за откривање фактора ризика за болест сафенског графта не може бити подцењена. Различити фактори доприносе развоју ове болести, а укључују факторе који су повезани са самим оперативним захватом, као и пушење, дијабетес мелитус, хиперлипидемију и друге. Хируршка манипулација, као што је одсечна до груба, или прекомерна дистензија одређеног сегмента сафенског венског графта може маскирати штетне ефекте који могу настати током препарације и за складиштење графта. Ови фактори су битни за усмеравање пажње хирурга и тимова за неопходне кораке у циљу минимизације ризика и обезбеђивања успешне ревакларизације миокарда код пацијената. Прво испитивање које доводи у директну везу оштећење аутоvensког графта са раствором за складиштење је студија од стране *Gundry et al.* (134) који су упоређивали аутоvensке графтове хуманих сафенских вена 30 пацијената у 0.9% *NaCl* раствору и раствору хепаринизираних аутологних пуне крви на температурама од 4-28°C и дистензионим притисцима од 100-300 *mmHg*. Због потешкоћа у одржавању температуре раствора константном у операционој сали, одлучили смо се за држање раствора који се актуелно употребљава 30 минута на температуре собној температури операционе сале до изједначавања температуре раствора са собном температуром. Просечна температура операционе сале је била 17°C иако није показана статистички значајна разлика у очуваности интегритета ћелија ендотела, приказана је негативна корелација, тј. већа очуваност интегритета ендотела при нижим температурама раствора. Овај резултат није

изненађујући обзиром да постоји значајан пад ензимске функције и ћелијског метаболизма при нижим температурама, од скоро 10x по 1°C мање телесне температуре *in vivo*. Корелација са ћелијским метаболизмом *in vitro* би биле само логична (135). У наведеном истраживању употреба топлог физиолошког раствора и дистензија изнад 300 *mmHg* су независно одговорни за масивно оштећење ендотела, међутим, већи део ендотела су графтови чувани у топлој или хладној аутологној хепаринизираној целој крви уз дистензионе притиске мање од 100 *mmHg*. Истраживање је дало позитивне резултате када су коришћени дистензиони притисци нижи од 100 *mmHg* и аутологна хепаринизирана цела крв. Када је коришћен физиолошки раствор, долазило је до стварања интрамуралног едема независно од дистензионог притиска, али у комбинацији са високим дистензионим притиском опет је долазило до масивног оштећења ендотела. Ово указује на негативни ефекат физиолошког раствора независно од примењеног дистензионог притиска, али у комбинацији са високим дистензионим притиском има директни негативни ефекат на ендотелни слој ћелија. Аутори су закључили да је складиштење аутоvensких графтова у аутологној хладној хепаринизираној целој крви уз дистензионе притиске мање од 100 *mmHg* приликом препарације прихватљив начин опхођења према аутоvensком графту. *Wise et al.* описују да је складиштење аутоvensких графтова у физиолошком раствору изазивају оштећење графта и наводе да се ови ефекти умањују применом пуферованих сланих раствора. У овом чланку се упоређују узорци сафенске вене складиштени у 6 различитих раствора: 0.9% *NaCl* физиолошки раствор, аутологна пуна крв, раствор Универзитета из Висконсина, *Celsior* раствор, *Plasma-Lyte A* раствор и глутатион-аскорбинска киселина-Л-аргинин (*GALA™*) раствор (136). Опет је физиолошки раствор имао лош утицај на ендотел, пуферовани раствори су умањили тај ефекат док су балансирани пуферовани раствори одржавали физиолошке функције ендотела.

Истраживање које су спровели *Viaro et al.* фокусирао се на велике сафенске вене припремљене за аорто-коронарно аутографтовање у контексту утицаја интралуминално примењеног притиска складишне течности (у овом случају, Кребсов раствор). Истраживање је обухватило 20 пацијената, а циљ је био процена утицаја различитих притисака (контрола, 100 *mmHg*, 200 *mmHg* и 300 *mmHg*) током 15 секунди на интегритет ендотела вена. Процена утицаја притиска складишне течности на интегритет ендотела извршена је имунохистохемијским обележавањем узорака сафенских вена на антиген

CD34. Резултати истраживања показали су да је утицај притиска на денудацију ендотела туника интима сафенских вена приметан већ при притиску од 200mmHg , а најизразитији утицај је био у групи с притиском од 300mmHg . У семиквантитативној анализи, аутори су евидентирали присуство ендотела имунохистохемијски на *CD34*, оцењујући га са 4+ за контролну групу и групу с притиском од 100mmHg , са 3+ у групи с притиском од 200mmHg , и само са 1+ у групи с притиском од 300mmHg . Ови резултати указују на значајан утицај притиска складишне течности на интегритет ендотела сафенских вена и на значај визуализације ових ефеката коришћењем *CD34* (137). Постоји потреба за специфичним раствором за складиштење аутоvensких графтова не би ли се омогућило оптимално окружење за аутоvensки графт у времену пред његову транзицију у ауртеријску циркулацију. Резултати које су постигли комерцијални *GALA™* или *TiProtec™* раствор показују потенцијала али даље нису опште прихваћени у клиничкој пракси. Пре неког времена *DuraGraft®*, раствор који је специфично развијен за презервацију ткива, уведен је на Европско тржиште. Назван је инхибитором оштећења ендотела. Одабрана су три кључна састојка због свог претпостављеног позитивног ефекта на функцију ендотелних ћелија (138). Глутатион, ћелијски редуктор, повећава транспорт Л-аргинина у ендотелним ћелијама и може довести до стимулације *eNOS* активности. Аскорбинска киселина је антиоксидант познат по својој активности над слободним радикалима (*ROS*). Л-аргинин је познати супстрат за *eNOS* и показао је способност смањења интеракције између неутрофила и ћелија ендотела код инфламраних крвних судова. Потреба за новим раствором за складиштење је евидентна, али могла би се наћи финансијска замерка у односу на крвне растворе. Једном када напусти циркулаторни систем, крв као да изгуби своја протективна дејства (139). Због пада $p\text{CO}_2$ *ex vivo* постоји убрзани губитак CO_2 у крви што води до пораста $p\text{H}$ до 8.0. Базни $p\text{H}$ утиче на ендотел и функцију глаткомишићног слоја ћелија због губитка јонског баланса (140). Укратко, потребан је нови раствор за складиштење аутоvensких графтова, али веће студије су неопходне не би ли се дошло до одговарајуће. Постоји јасна веза између дијабетеса и кардиоваскуларних обољења која је установљена пре више десетина година. Упркос томе, механизми којима дијабетес доприноси формирању плакова остају недовољно испитани. Хипергликемија која дефинише дијабетес мелитус независно утиче на атерогенезу на моделима култура ћелија, животињским моделима, као и код пацијената. Биологија ћелија ендотела игра централну улогу у формирању атеросклеротских плакова због своје улоге регулисању пропустљивости ћелијског зида, инфламације и тромбозе (141,142). У овом истраживању испитиван је утицај висине вредности *HbA1c* код

пацијената оболелих од дијабетеса. Није нађена статистички значајна разлика вредности *HbA1c* која корелира са степено очувања интегритета ендотелних ћелија за било који од испитиваних раствора. *Wilbring et al.* (270) су 2013. закључили да физиолошки раствор више не треба да буде препоручен као раствор за складиштење. У овом испитивању су сегменте сафенске вене складиштили у трајању од 30 минута на собној температури или у хепаринитираном физиолошком или у хепаринизираној пуној аутологној крви пацијента. Узорке су анализирали уз помоћ *Mulvanу* миографа. Након прекострукције норадреналином, однос концентрације и релаксације је испитан уз помоћ натријум нитроприсида не би ли се испитао капацитет ендотела на глаткомишићну вазорелаксацију. Чак је и енергија коју даје аденозинтрифосфат детерминисана на основу течних хроматографских мерења нивоа нуклеотида у ткиву. Након инкубације и рецептор зависни и рецептор- независни максимум тензије зида је био смањен у групи са физиолошким раствором а ниво енергије је био знатно већи у групи са аутологном крви (143). Сва три испитивања показала су позитиван утицај аутологне пуне крви и негативан утицај физиолошког раствора на ендотел, оваква статистички значајна разлика у очувању интегритета ендотела није забележена у овом истраживању, иако се у наведеном истраживању не помиње дистензиони притисак током хируршке препарације сафенског венског графта. *Chester et al.* су анализирали контрактилност на примену норадреналина, 5-хидрокситриптамина, допамина, хистамина и ацетилхолина на 210 уроек хумане сафенске вене упоређујући презервационе растворе аутологне пуне крви (I), хепаринизираног физиолошког раствора (II), 199-TC раствор (III), *St. Thomas* кардиоплегијски раствор (IV) и *Plasmalyte* раствор. Сви раствори су тестирани на собној температури у трајању од сат времена у погледу тензионих контрактилних сила. Одговор након складиштења у раствору кардиоплегије је био знатно већи него у осталим групама, дакле складиштење у пуној аутологној крви нити повећава нити смањује реактивност ендотела у овом испитивању (133). *Kurusz et al.* су се бавили сличним истраживањем. Испитивали су три раствора на аутоvensким графтовима: аутологна хепаринизирана цела крв, хепаринизирани физиолошки раствор и кардиоплегијски раствор (25 mEq K/L, pH 7.8, 300 mOsm). Сви раствори су држани на температури од 10°C, а дистензиони притисак није прелазео 200mmHg у све три групе. Дистензиони притисак је опет био најважнији фактор лошег исхода. Вене дистендиране притиском од 200mmHg су опет показале сличну морфологију ендотелног оштећења. Као што је и очекивано, вене дистендиране без контроле притиска показале су још већи степен оштећења интима уз деструкцију великих површина ћелија без обзира на коришћени медијум (128). Утицај аутологне

хепаринизирани цели крви је испитивао *Lawrie et al.* анализирајући исечке аутоvensких графтова 85 пацијената подвргнутих хируршкој реваскуларизацији миокарда. Испитано је укупно 139 препарата сафенске вене. Графтови су били складиштени на собној температури у једном од три раствора: физиолошки раствор, цела хепаринизирана крв и *plasmalyte* раствор. Мерени су утицај промене температуре (од собне до 2-4°C) и притисака (до 400mmHg) на ниво *EDRF* (*Endothelium Dependent Relaxation Factor*). Ово испитивање је јасно показало да је физиолошки раствор инфериоран у односу на пуну аутологну крв и *Plasmalyte* раствор у погледу капацитета лучења *EDRF*, што значи да је капацитет ендотела да се релаксира озбиљно нарушен. Висок притисак и ниска температура раствора за складиштење су се показали као негативни фактори (119). Истраживање које су спровели *Tsui et al.* обрађује проблем оклузије сафенских вена после операције бајпаса коронарних артерија. Резултати иховог истраживања показују тенденцију оклузије сафенских вена током прве године после операције, која може износити и до 30%. У контексту конвенционалне хирургије, истраживачи су уочили значајно оштећење зида сафенске вене током венотомије. Централни фокус истраживања био је на квантификацији интегритета ендотела, а оцена је извршена на основу имунохистохемијске детекције азот оксид синтазе (*NOS*) у различитим групама графтова. Истраживачи су посветили посебну пажњу групама графтова који су претпрели венотомију *no-touch* техником и групи која је користила конвенционалну методу. Резултати су показали статистички значајно умањење присуства ендотела у групи са конвенционалном методом, где је измерено само 52%, усправљено на 72% у групи *no-touch* графтова. Овај налаз указује на потенцијалну предност *no-touch* технике у одржавању интегритета ендотела сафенских вена и може допринети смањењу ризика од оклузије у послеоперативном периоду.

У истраживању *Unal et al* представљен је нови приступ који укључује коришћење лидокаина као презервационог агенса у хирургији сафенских графтова. Испитивано је 11 пацијената код којих су сафенски графтови били подељени у три сегмента, а затим сегментирани у три групе: контролна група (*C*), група са коришћењем физиолошког раствора (*PS - physiological solution*) и група са коришћењем лидокаина (*L*). Мерени су нивои азот оксид синтазе (*NOS*), супероксид дизмутаза (*SOD*) и тиобарбитуратне киселине, а хистолошко испитивање је сprovedено на групама *L* и *C*, док је хистолошки скор групе *PS* био на значајно вишем нивоу. Резултати су показали слична хистолошка испитивања за *L* и *C* групу, док је хистолошки скор у групи *PS* био виши. Нивои *NOS* и

NO су били виши у *L* и *PS* групама у односу на контролну групу. Активност *SOD* је била виша у *L* групи у односу на *PS* групу, а најнижа у контролној групи. Аутори су закључили да се оштећење настаје примарно за време операције, као резултат трауматског опхођења према графту. Додатна оштећења могу настати узроком исхемијско-реперфузионе повреде током складиштења графта у медијуму. Додавање лидокаина у презервациони раствор може заштитити сафенски графт од каснијих повреда, међутим, обзир на број пацијената је био недовољан и до сада нема сличних истраживања. Аутори такође закључују да високи дистензиони притисци превазилазе бенефите аутологне крви или специфичног раствора у односу на физиолошки раствор, посебно на собној температури или топлијим условима.(144). Утицај аутологне хепаринизираних целе крви је испитивао *Lawrie et al.* анализирајући исечке аутоvensких графтова 85 пацијената подвргнутих хируршкој ревакуларизацији миокарда. Испитано је укупно 139 препарата сафенске вене. Графтови су били складиштени на собној температури у једном од три раствора: физиолошки раствор, цела хепаринизирана крв и плазмалуте раствор. Мерени су утицај промене температуре (од собне до 2-4°C) и притисака (до 400 mmHg) на ниво *EDRF* (*Endothelium Dependent Relaxation Factor*). Ово испитивање је јасно показало да је физиолошки раствор инфериоран у односу на пуну аутологну крв и *plazmalyte* раствор у погледу капацитета лучења *EDRF*, што значи да је капацитет ендотела да се релаксира озбиљно нарушен. Висок притисак и ниска температура раствора за складиштење су се показали као негативни фактори (119). *Zerkowski et al.* (145) су испитивали утицај раствора на аутоvensке графтове 1993 године на 30 пацијената који су били подвргнути хируршкој ревакуларизацији миокарда. Коришћени су пуна хепаринизирана крв, *Bretschneider*-ов раствор (ХТК), раствор хуманих албумина и Рингер-ов раствор. Узорци су упоређивани са контролном групом, тј. узорком сафенске вене од сваког пацијента појединачно која је складиштена у крви пацијента. Узорци складиштени у хепаринизираној пуној крви показали су сличне максималне контракције на примену норадреналина као у контролној групи. Релаксација на примену ацетилхолина је нађена код 72.4% узорака из групе са пуном крви, 44% из ХТК групе, једном узорку у групи са физиолошким раствором и ниједан у групи са раствором хуманих албумина, примећене су парадоксалне контракције на ацетилхолин. Аутори су закључили да је пуна крв знатно боља у очувању нетакнутог ендотела од осталих раствора, што се у овом испитивању није показало. Треба нагласити да је проценат очувања интегритета ендотела нешто мањи код исечака код којих је коришћена аутологна хепаринизирана крв у односу на исечке потопљене у раствор свеже замрзнуте плазме, иако статистички значајна разлика

не постоји, мада је амплитуда између минималне и максималне вредности мања код исечака који су били потопљени у раствору свеже замрзнуте плазме неголи код узорака изложеним хепаринизираним физиолошким раствором и хепаринизираној аутологној пуној крви па се може закључити да је специфичност овог раствора већа од хепаринизираним физиолошког раствора и хепаринизираним пуне аутологне крви. Још једна позитивна страна овог раствора јесте чињеница да не захтева примену хепарина као додатног састојка јер се претпоставља да нефракционисани хепарин има негативно дејство на ендотелни гликокаликс и због тога доприноси денудацији ендотела (146).

Обзиром да се примена раствора свеже замрзнуте плазме у сврху складиштења сафенског венског графта не помиње у литератури (*PubMed, Scopus, Web of Science, ScienceDirect* претрага), резултати овог истраживања се не могу поредити са истраживањима која користе истоветни раствор већ евентуално са онима која користе комерцијалне растворима који садрже протеине плазме или растворе хуманих албумина, при том треба напоменути да ниједан од тих раствора нема конституенте који се налазе у физиолошким релацијама као раствор свеже замрзнуте плазме. Свежа замрзнута плазма (СЗП) има у себи физиолошки сразмеран садржај фактора коагулације, фибриногена (400-900mg/јединици), протеине плазме (60-80mg/L од којих су 50-60% албумин, 40% глобулини од којих 10-20% имуноглобулин G, IgG), електролити, физиолошки антикоагуланти (протеин C, антитромбин и инхибитор ткивног пута коагулације) (147). *Dumanski et al.* су анализирали експресију адхезионих молекула и њихову корелацију са типом медијума коришћеним приликом препарације сафенске вене. Као додатак су испитивали и утицај дистензионог притиска. Након испирања кондуита хепаринизираним крвљу или физиолошким раствором долазило је до сличног степена оштећења на ендотелу, експресија CD31 и повезаних маркера молекула ћелијске адхезије, посебно васкуларни адхезиони молекул 1 (VCAM1), интерцелуларни адхезиони молекул 1 (ICAM1) и II селектин. Експресија адхезионих молекула је била виша код венских сегмената изложених високом притиску. Оштећења површине ендотела означена CD31 позитивним бојењем била је једнака при коришћењу аутологне целе крви и физиолошког раствора па је група закључила да је оштећење настало независно од раствора и да је директни производ дистензионог притиска. Међутим, сви сегменти вена су иницијално испрани физиолошким раствором не би ли се испрала резидуална крв, што може бити ограничавајући фактор (147). *Lamm et al.* су испитивали утицај континуиране перфузије пуном аутологном крвљу и упоређивали ендоскопски харвестоване аутоvensке графтове са традиционалном отвореном техником. Познато је да се ове две

методе разликују у неколико аспеката и постоји потреба за одвојеном дискусијом. Постоји јасни бенефит негативног утицаја аутологне пуне крви током ендоскопског харвестинга и тај негативни утицај се може приписати самој хируршкој техници (148). *Bush et al.* и спровели су експериментално истраживање користећи модел на псима који су сматрани мање вредним. У овом истраживању, истраживачи су извели дисекцију спољних југуларних вена на овим псима и сачували сакупљене вене у различитим условима: Узорци групе I су чувани у медијуму за култивацију ткива на нормалној телесној температури, групе II у хепаринизованој аутологној пуној крви такође на истој температури, док су узорци ткива испитаника групе III складиштени у хепаринизованом физиолошком раствору на температури од 4°C уз примењен притисак од 200 mmHg. Ове венске графтове су затим користили за хируршку реконструкцију каротидне артерије, а истраживачи су пажљиво анализирали како биохемијске, тако и морфолошке промене које су се дешавале пре и после имплантације у артеријски циркулаторни систем. Након процеса артеријализације, група I је показала развој необичног слоја на површини ендотела већ након 24 сата. Насупрот томе, група II је такође показала значајна оштећења на ендотелном слоју такође унутар 24 сата. Процес зарастања и опоравка у вези са овим променама на ендотелу трајао је око 4 недеље у групи I и 6 недеља у групи II. Интересантно је да је, упркос присуству абнормалне површине ендотела након артеријализације у Групи III, уочено да су морфолошке промене и процес зарастања били прилично слични онима уоченим у Групи II. (149). Ово испитивање је показало да постоје неки бенефити коришћења аутологне пуне крви, али да овај бенефит не перзистира након артеријализације. Иако се наведено истраживање разликује од истраживања спроведеног на нашој клиници и у Хистолошкој лабораторији Медицинског Факултета у Нишу, од изузетног је значаја спознаја промена кроз коју зид вене пролази након инклузије у артеријску циркулацију услед повишеног притиска, shear stress-а, пулзатилних сила, а нарочито његова трансформација услед излагања неутрофилима, тромбоцитима и дугим имуним ћелијама.

Студија коју су спровели *Akboga et al.* 2016. године била је ретроспективна и укључивала је 112 пацијената са атеросклеротском болешћу сафенског венског графта и 145 пацијената без ове патологије. Резултати студије показали су да су низак ниво албумина и висок однос моноцита према *HDL (high-density lipoprotein)* холестеролу били фактори ризика за развој атеросклерозе сафенског венског графта. Ови биомаркери, као што је низак ниво албумина и висок однос моноцита/ *HDL*, могу служити као индикатори

озбиљности и патолошких промена у сафенским венама. Студија је претстављала значајан допринос разумевању фактора ризика за атеросклерозу сафенских вена и могла би помоћи у превенцији и управљању овом болешћу. (150) Престанак нормалне функције ендотела престаје да спречава глаткомишићне ћелије да задрже свој фенотип и у зависности од очувања овог врло битног слоја долази до настанка хиперплазије ендотела. Сматра се да је за функцију ендотела од кључног значаја првенствено очување интегритета ћелија овог слоја, те из резултата овог истраживања произилази да између раствора 0.9% *NaCl*, аутологне хепаринизирани крви и раствора свеже замрзнуте плазме нема статистички значајне разлике у очувању интегритета ендотела. *Santoli et al.* су 1993. Објавили студију која се фокусира на морфолошке промене интима аутоvensког графа виђене уз помоћ електронске микроскопије. Укључено је 15 пацијената подвргнутих хируршкој ревакуларизацији миокарда и делови дисталне сафенске вене су онда одмах фиксирани (контролна група) или убачени у један од раствора: аутологна пуна крв, раствор Универзитета у Висконсину или хепаринизирани физиолошки раствор са папаверином. Занимљиво је да је ова студија показала да аутологна пуна крв није без својих недостатака и да су могућа знатна оштећења ендотела јер су сегменти складиштени у аутологној пуној крви имали значајан губитак ћелија, едем па чак и поља некрозе у поређењу са узорцима складиштеним у друга два раствора. Аутори су закључили да развитак специфичних раствора, као што је онај са Универзитета у Висконсину доста обећава и апеловали на развој алтернативних раствора (151). *Cavallari et al.* су на канином моделу спровели поређење између раствора Универзитета у Висконсину и физиолошког раствора, као и аутологне пуне крви, при температури од 4°C. Њихови налази указују да су приметне само минималне разлике у структуралном и функционалном оштећењу ендотела. Међутим, кључни закључак овог истраживања је да се раствор Универзитета у Висконсину показао надмоћним у оба аспекта, односно како структурном тако и функционалном очувању ендотела. Ово истраживање може имати значајне импликације у клиничкој пракси, указујући на важност одабира одговарајућег раствора приликом хируршких захвата на крвним судовима. Њихова потврда да раствор Универзитета у Висконсину пружа бољу заштиту и очување ендотела може водити ка побољшању исхода оваквих хируршких интервенција и смањењу потенцијалних компликација. (152).

Истраживање које су спровели *Koukis et al.* истиче могуће негативне утицаје антероградне примене кардиоплегичног раствора кроз лумен аутоvensког графта на

ендотел графта. У истраживању је учествовало 52 пацијента, а циљ је био истражити утицај кардиоплегичних раствора на ендотел венских графтова. Узорци сафенских вена су били биопсирани пре и након антероградне примене кардиоплегичног раствора. Ови узорци су затим анализирани рутински и хистолошки, с применом имунохистохемијског обележавања на CD34 за праћење структуре ендотела. Резултати истраживања показали су значајно оштећење ендотела венских узорака након примене кардиоплегичних раствора. Дужина венских узорака је знатно порасла, а степен оштећења ендотела је такође био повећан. Усредњен степен оштећења ендотела без излагања кардиоплегичном раствору био је 25%, док је у групи изложеној раствору та вредност износила 30%. Закључци аутора су да антероградна примена кардиоплегичних раствора кроз лумен венског графта може довести до значајног оштећења ендотела, што може имати дугорочне последице на проходност графта. Аутори предлажу да се ближе испитају температурни утицаји раствора и да се протективне супстанце додају како би се избегло оштећење ендотела венских графтова при антероградној примени кардиоплегичног раствора. (153).

Weiss et al. Истраживањем морфологије узорака људских сафенских вена, прикупљених од 293 пацијента, коришћена је електронска микроскопија. У овом истраживању, узорци сафенских вена су складиштени у различитим растворима, укључујући физиолошки раствор, физиолошки раствор са 5% раствора албумина, ХТК раствор и хепаринизирану аутологну крв. Резултати су показали запањујућу брзу и обимну деградацију ендотелних ћелија када су узорци складиштени у физиолошком раствору. Већ након два сата складиштења, више од 40% ћелија ендотела је постало невијабилно. Коришћење физиолошког раствора у комбинацији са 5% албумина је успорило процес деградације ендотела, али је ипак након 2-5 сати примећено значајно оштећење ендотела. Уз коришћење ХТК раствора, ткиво није успело да сачува своју интегритет, што указује на његову неефикасност као складишног раствора за очување сафенских вена. Једина ситуација у којој је забележена стабилност ткива и преживљавање ендотелних ћелија била је када су узорци били складиштени уз употребу хепаринизираних аутологних крви. Ови налази су од суштинског значаја јер указују на важност избора одговарајућег складишног раствора у контексту припреме венских графтова, и наглашавају потенцијалне предности употребе хепаринизираних аутологних крви у очувању структуре и функције сафенских вена током процеса трансплантације или хируршке реконструкције (154). Постоји делимична корелација квантитативним

морфометријским подацима забележеним у овом истраживању. Потенцијална разлика у резултатима може се приписати разлици у квалитету корићене крви. У овом истраживању је коришћена хепаринизирана аутологна венска крв док је у истраживању спроведеном од стране *Weiss et al.* коришћена оксигенизована хепаринизирана аутологна крв. Разлика у *pH* крви, као и у гасним карактеристикама може имати утицаја на одржавање хомеостазе ендотелних ћелија графта *in vitro*. Резултати треће фазе рандомизоване, двоструко следе, контролисане плацебом студије под називом *PREVENT IV*, која је обухватила 3014 пацијената подвргнутих хируршкој реваскуларизацији миокарда уз коришћење аутологне сафенске вене као графтова, били су објављени 2005. године. У овом истраживању, употребљен је едифолигид, олигонуклеотидни мамац који инхибира *E2F* транскрипционе факторе (који су еукариотски транскрипциони фактор 2), с циљем спречавања неоинтималне хиперплазије и оклузије на аутовенским графтовима на одређеним имплантираним сегментима. Аутовенски графтови су били подвргнути третману *ex vivo* или су третирани едифолигидом или плацебом, након чега су пацијенти подвргнути испитивању 12-18 месеци касније. Ова студија је донела значајне увиде у ефикасност едифолигда у очувању аутологних сафенских графтова, чиме је потенцијално побољшала дугорочне исходе хируршких процедура реваскуларизације миокарда. Њени налази су од суштинског значаја за разумевање како се могу унапредити резултати оваквих критичних хируршких захвата. (155). Едифолигид није показао надмоћност у односу на плацебо, али потребно је даље праћење како би се проценили могући одложени позитивни ефекти на ендотел аутовенских графтова. У 2014. године, објављени су резултати *PREVENT IV* студије која је истраживала очување аутовенских графтова коришћењем физиолошког раствора, аутологне пуне крви и пуферованих сланих раствора. У оквиру студије анализирани су ангиографски резултати након годину дана, као и петогодишњи морталитет, инциденца акутног инфаркта миокарда и потреба за поновном реваскуларизацијом. Учествовало је укупно 3014 пацијената, при чему је 44,4% њих примило физиолошки раствор, 32,2% аутологну пуну крв, а 16,8% пуферовани физиолошки раствор. Први резултати након годину дана указали су на боље резултате код пацијената чији су аутовенски графтови били презервирани пуферованим физиолошким раствором у поређењу са групама које су користиле физиолошки раствор и аутологну пуну крв. Такође, у петогодишњем периоду, примећен је нижи морталитет, мања инциденца инфаркта миокарда и мања потреба за поновном реваскуларизацијом у групи са пуферованим физиолошким раствором у односу на друге две групе. Ови резултати указују на то да су пацијенти чији су аутовенски графтови били сачувани

пуферованим физиолошким раствором имали мању стопу оклузије графтова и побољшане клиничке исходе. Ова студија наглашава значај адекватног очувања аутовенских графтова током процедура реваскуларизације миокарда и његов потенцијални утицај на дугорочне исходе пацијената. (156).

Истраживање аутора наглашава важност проучавања техника препарације вене и течности за очување као узрочнике атеросклеротске болести сафенског венског графта. У извештају су анализирани резултати 13 проспективних, контролисаних студија које су истраживале различите течности за очување у поређењу с физиолошким раствором као контролним решењем. Студије су укључивале различите интервентне растворе, укључујући хепаринизовану целокупну крв и физиолошки раствор, DuraGraft, TiProtec, EuroCollins, University of Winsconsin, пуферисане, кардиоплегичне и пируватне растворе. На крају, TiProtec и DuraGraft су идентификовани као најефикаснија решења за очување, док је физиолошки раствор показао негативне ефекте на венски ендотел. Упркос хетерогености у пракси и извештавању, аутори истичу значај истраживања у области течности за очување и препарације вене како би се побољшала дугорочна проходност сафенског венског графта у кардиохирургији. (157).

Први пут примењен 2011. године, *TiProtec*[™] се истакао као специјално развијен раствор за интраоперативно очување венских графтова. У оквиру истраживања, детаљно је проучаван утицај *TiProtec*[™] раствора у поређењу са физиолошким раствором на очување 99 сегмената сафенске вене. Ово проучавање је посебно истраживало кинетику контракције зидова крвних судова како би се разумела разлика у ефикасности очувања између ова два раствора. Значајно је напоменути да су у групи која је користила физиолошки раствор примећена оштећења на ендотелном слоју вена. Насупрот томе, у групи која је користила алтернативни *TiProtec*[™] раствор, ендотелна функција је знатно боље очувана. Ови налази наглашавају потенцијалну супериорност *TiProtec*[™] раствора у очувању функционалности венских графтова и указују на његову корисност у интраоперативном контексту. Осим што пружа боље разумевање како овај раствор позитивно утиче на зидове крвних судова, истраживање такође указује на могућност побољшања дугорочних исхода хируршких процедура реваскуларизације, чиме се директно користи пацијентима подвргнутим овим поступцима. (139). *TiProtec*[™] је формулисан као раствор обogaћен калијумом и Н-ацетилхистидином. *Wilbring* је у својим истраживањима поновно нагласио 2013. године да је препоручљиво да се регуларни физиолошки раствор више не користи као раствор за складиштење аутовенских

графтова. У свом истраживању је потврдио да је *TiProtec*[™] раствор у стању да значајно смањи губитак функционалности ендотела током складиштења у хладном раствору. *Thatte et al.* су 2003. године применили мултифотонску микроскопију како би детаљно проценили структурални и функционални интегритет хуманих сафенских вена у различитим растворима. На темељу њихових налаза и истраживања, развијен је нови раствор под именом *GALA*[™]. Ови раствори, попут *TiProtec*[™] и *GALA*[™], представљају значајне иновације у области очувања венских графтова и наглашавају важност избора адекватног раствора у циљу очувања структуралног и функционалног интегритета крвних судова током периода складиштења. Њихова примена може унапредити дугорочне исходе пацијената који су подвргнути хируршким процедурама као што је реваскуларизација миокарда. (138).

Нови физиолошки раствор *GALA*[™] базиран је на Хенковом балансираном физиолошком раствору и одржава функцију ендотела и структурни интегритет до 24 сата. Још један чланак исте групе је изашао 2011. године у коме се говори о ендоскопском харвестингу аутоvensких графтова уз коришћење овог раствора, али се више говори о методи препарације графта него о самом раствору (класична хируршка метода у односу на ендоскопски приступ) (158). Метода хируршке припреме, иако важан фактор у овом истраживању, била је пажљиво изолована и искључена из анализе како не би утицала на равнотежу истраживања. У истраживању, фокус је био искључиво на примени класичне отворене методе хируршке припреме велике сафенске вене. Затим, у 2009. години, у другој студији, иако је узорак био релативно мали и обухватао је 19 хуманих сафенских вена, време инкубације је продужено изван уобичајених оквира, трајући од 24 до 96 сати. Још једном, резултати су указали на значајне разлике између групе која је користила физиолошки раствор и оне која је користила *TiProtec*[™] раствор. У групи са физиолошким раствором, примећена су озбиљна оштећења ендотела, док је функција ендотела у групи са *TiProtec*[™] раствором остала углавном очувана. Ово истраживање се бави кључним питањима у контексту очувања венских графтова током хируршких процедура и наглашава важност одабира одговарајућих решења која могу значајно побољшати дугорочне исходе пацијената подвргнутих овим поступцима. *TiProtec*[™] раствор се истиче као потенцијално корисно средство за очување структуралног и функционалног интегритета сафенских вена током хируршке припреме. (143). У скоријем хистолошком истраживању које је обухватило анализу исечака сафенских вена код пацијената оболелих од дијабетеса, спроведеном 2021. године, *Ak et al.* су дошли до

важног закључка. Њихов налаз указује на то да смањена експресија *eNOS* (*endothelial nitric oxide synthase*) и повећана интимална фиброза, као и појава вакуолизације ендотелних и глаткомишићних ћелија, могу бити последица присуства дијабетеса мелитуса. Ови налази отварају врата за дубље истраживање и анализу клиничких импликација. Важно је истражити како овакве промене на ендотелу и мишићним ћелијама могу утицати на васкуларно здравље пацијената са дијабетесом и како би се разумели могући ефекти на дугорочне исходе. Ова студија поставља темеље за даља истраживања у циљу развоја стратегија и терапија које би могле побољшати стање пацијената оболелих од дијабетеса и сачувати њихову васкуларну функцију (159) Иако су почетни резултати истраживања над *Bretschneider*-овим раствором били прилично обесхрабрујући, показавши промене у функцији ендотелијалних ћелија и доприносећи деендотелизацији, *Kurusz et al.* су били међу првима који су објавили резултате који су указивали на неинфериорност у очувању интегритета ендотелијалних ћелија приликом коришћења посебно дизајнираних раствора за складиштење у поређењу са традиционалним растворима (као што су хепаринизирани физиолошки раствор 0.9% *NaCl* и хепаринизирана аутологна крв). Ово је посебно истраживано при температури од 10°C уз примењен дистензиони притисак од 200 *mmHg*. (128) Претходна истраживања су већ указала на то да притисак већи од 100 *mmHg* унутар венског графта приликом коришћења физиолошког раствора 0.9% *NaCl* при температурама нижим од 20°C може негативно утицати на слој ендотелијалних ћелија графта. Ово може узроковати едем медије, што даље може допринети појачању повреда изазваних исхемијско-реперфузионим процесима код графта. Резултати овог истраживања, заједно са претходним налазима, указују на значај адекватног избора раствора за очување венских графтова и правилног управљања дистензионим притиском током хируршких процедура. Ово може значајно унапредити дугорочне исходе пацијената који су подвргнути овим критичним процедурама. (119). Активација апоптотских механизма, као и њихово сузбијање, може имати значајан утицај на трајност венских графтова. У каснијем истраживању, Честер и сарадници су пружили доказе да постоји значајно појачан контрактилни одговор на норадреналин након складиштења сафенског венског графта у *St. Thomas* кардиоплегичном раствору у поређењу са складиштењем уз коришћење аутологне хепаринизираних крви или хепаринизираних физиолошког раствора. Ови налази указују на то да различити начини складиштења могу утицати на контрактилне особине графтова и њихов одговор на вазоконстрикторне супстанце као што је норадреналин. Ово истраживање подвлачи важност пажљивог избора раствора за

складиштење и метода које се користе у циљу очувања функционалности венских графтова. Разумевање оваквих утицаја може бити кључно за унапређење дугорочних резултата пацијената који су подвргнути хируршким процедурама као што је реваскуларизација миокарда (133). *Grohs et al.* су пружили доказе који указују на супериорност *Bretschneider*-овог кардиоплегичног раствора у поређењу са *Krebs-Hanseleit* кристалоидним раствором. Такође су истраживали како се *Bretschneider*-ов раствор носи у поређењу са дуготрајним складиштењем венских графтова у хепаринизованој аутологној крви и раствору албумина. Овај налаз јасно истиче предности *Bretschneider*-овог раствора у погледу очувања функционалности и трајности венских графтова. Разумевање ових разлика у ефикасности различитих раствора и метода складиштења може допринети унапређењу исхода хируршких процедура реваскуларизације и побољшати васкуларно здравље пацијената. (160).

Процент денудације ендотела доказан бојењем антитела везаних за *CD34* рецепторе приликом коришћења Бретшнајдеровог раствора износи 26.77% што се статистички значајно разликује од осталих раствора коришћених у истраживању. Гликокаликс ендотела је слој са својствима сличним гелу и богат угљеним хидратима који облаже унутрашњост васкуларног ендотела. Овај слој је повезан са ендотелом путем кључних молекула, углавном протеогликана и гликопротеина, који заједно формирају мрежу. Унутар те мреже, инкорпорирани су различити растворљиви молекули који потичу из плазме или самог ендотела. Гликокаликс ендотела формира се према лумену, састављен од растворљивих компонената које су међусобно повезане, или преко солубилних протеогликана и глукозаминогликана. Дебљина гликокаликса варира и динамично се мења под утицајем различитих фактора, укључујући ензимске процесе и дејство *shear stress*-а (сила трења крвних флуида на унутрашњост крвних судова). Одржавање равнотеже између синтезе и крзања (енг. *shedding*) гликокаликса чини прецизно одређивање његове геометрије веома изазовним. Састав овог слоја, који укључује мембрански везане протеогликане, гликопротеине и гликозаминогликане, те компоненте у плазми које су растворљиве, није статичан. Уместо тога, површински слој ендотела је веома динамичан, са молекулима везаним за мембрану који се континуирано обнављају и замењују, без јасно дефинисане границе између локално синтетисаних компонената и елемената који су допремљени из плазме. На пример, хијалуронан везан за мембрану може да достигне дужину од преко 1 микрометра. Ендотелни гликокаликс има кључну улогу у очувању здравља ендотела. Смештен између циркулације крви и

мембране ендотелних станица, он је пресудан фактор у регулацији васкуларне пропустљивости. Евидентирано је да овај слој може селективно ограничити приступ одређеним молекулима мембрани ендотелијума. Ово својство је демонстрирано у експериментима на пацовима, посебно на мезентеричним артеријама, користећи флуоресцентно означене декстране различитих молекулских величина. Ензимско (парцијално) уклањање гликокаликса, праћено губитком његове функционалности у одржавању полупропустљивости капилара, доводи до појаве едема у миокарду (159).

Неутрализација гликокаликса доводи до повећане апсорпције албумина од стране ендотелних ћелија, а такође повећава пропустљивост за флуоресцентно означене декстране у мезентеричним артеријама пацова. Класични модел микроваскуларне размене течности познат као *Starling*-ов закон из 1896. године сугерише да филтрација течности преко ендотела капилара зависи од хидрауличког и колоидног осмотског притиска у лумену крвних судова и околном ткиву, овај модел је открићем постојања и функције ендотелног гликокаликса постао непримењив. Током хируршке препарације сафенске вене конвенционалном техником ендотел долази у контакт са раствором који се користи за инсуфлацију графта ради провере величине његовог лумена и интегритета. Тај први контакт може да има потенцијални детриментални ефекат на судбину овог кондуита тако што може да сачува или оштети интегритет овог танког, деликатног слоја, а опет од круцијалног значаја за очување интегритета ендотелних ћелија. Раствори примењени у овом истраживању су посебно одабрани због својих карактеристика. Хепаринизирани 0.9% раствор *NaCl* представља традиционални и један од најћешће коришћених раствора у сврху складиштења венских графтова у коронарној хирургији и у неку руку може се рећи да је коришћен као контролна група, пошто је употреба овог раствора скоро па мандаторна приликом сваке процедуре реваскуларизације миокарда која није *OPCAB*, на који отпада мањи проценат укупног броја хируршких реваскуларизационих процедура (5-10%) (145).

Претпоставка је да природа кристалоидног раствора доводи до растварања слоја ендотелног гликокаликса и на тај начин омогућава имуним ћелијама крви да дођу у контакт са зидом ћелије ендотела што даље доводи до каскаде добро познатих догађаја на површини ендотела који на крају доводе до оштећења зида и почетка зачараног круга и процеса на и у зиду венског кондуита што потенцијално води у његову дисфункцију. У неколико спроведених испитивања потврђен је штетни утицај овог раствора, док опет у другим истраживањима није показана разлика између овог раствора и хепаринизирани

аутологне крви. Неки истраживачи су дошли до закључка да је главни кривац за овакве резултате био управо нефракционисани хепарин. Раствор хепаринизаране крви је одабран на основу његових физиолошких карактеристика. Својства и карактеристике су добро познате, садржај електролита, кисеоника и хранљивих материја у савршеним пропорцијама, уз „*caveat*“. Сви механизми и бенефити крви као раствора за складиштење венских графтова важе само на собној температури у одсуству додатака у било ком облику. Ово нажалост није могуће извести, пошто би коагулациона каскада наступила на сцену и врло брзо довела до оклузије венског графта пре него што уопште дође до тренутка креације било које анастомозе. Ту наступа хепарин, са свим својим бенефитима, али и потенцијалним манама које се одражавају на стање ендотелног гликокаликса због јонизујуће природе сулфатних група (161). Такође није могуће одржавати температуру крви у физиолошким границама у току процеса хируршке препарације, што само по себи имплицира промену рН крви, као и измењену функцију имуних ћелија. Свеже замрзнута плазма (СЗП) је као раствор са потенцијално беневољентним ефектима на стање зида венског графта одабрана због свог јединственог протеинског састава. СЗП садржи све факторе коагулације, али и физиолошке антикоагуланте као што су протеин Ц, протеин С, инхибитор ткивног пута коагулације, све могуће протеине плазме (албумине, глобулине), електролите, али и конституенте ендотелног гликокаликса који након доспевања у циркулацију добијају антикоагулантна својства. Рационализација иза избора овог раствора јесте бенефит у смислу очувања слоја ендотелног гликокаликса и убирање бенефита у смислу протекције истог. Иако не постоји статистички значајна разлика између резултата добијених приликом употребе раствора СЗП, хепаринизованог физиолошког раствора и хепаринизоване крви у смислу очувања интегритета ендотелних ћелија, најмања амплитуда у резултатима је постигнута баш код овог раствора и највећа доследност резултата.

ХТК раствор (*Bretschneider*) представља групу дизајнираних раствора са широком употребом у медицини. Од кардиохирургије до трансплантације скоро сви солидних органа, перфузија овим садржајем доводи до побољшаних резултата у свим пољима у којима је коришћен. Његов састав је сличан интраћелијском саставу електролита и за разлику од екстраћелијских раствора трајање деполаризације мембране јесте много дуже (162). Иако је примена овог раствора у другим истраживањима је имала позитиван ефекат на функцију ендотела, у једном истраживању се наводи негативан ефекат овог раствора на интегритет ендотела, уз напомену да то јесте иницијални ефекат

који нема каснијег негативног утицаја на клиничке резултате. Најбоља пракса код избора места за дисталну анастомозу у бајпас операцијама за коронарне артерије подразумева селекцију сегмента коронарне артерије који је што слободнији од атеросклеротских плакова. Овакав приступ има за циљ осигурати дуготрајну патентност графта и оптимално функционисање. Један од кључних фактора јесте постизање антероградног протока. То значи да је пожељно да место анастомозе буде што ближе проксималном (извору) коронарног крвног суда. Разлози за овакав избор су вишеструки. Прво, проксимална регија коронарне артерије обично има већи лумен, што минимизира неусклађеност између графта и коронарне артерије. Ова усклађеност је кључна за одржавање оптималног протока крви и смањење турбуленција, што на крају доприноси дуготрајној патентности графта. Такође, већи лумен олакшава бољи проток крви, познат као "runoff" (163).

Важно је напоменути да величина лумена коронарне артерије има значајан утицај на дугорочну патентност графта. Студије су показале да након 10 година, аутовенски графтови имају импресивну стопу од 88% патентности на коронарним артеријама чији је лумен већи од 2 mm. Насупрот томе, код коронарних артерија са луменским пречником мањим или једнаким 2 mm, стопа патентности опада на 55%. Ови подаци додатно истичу важност избора адекватног места за анастомозу и узимајући у обзир величину лумена коронарних артерија (162). Аутовенски графтови, иако често коришћени у коронарној бајпас операцији (CABG), често се суочавају са изазовом оклузије током времена. Ови графтови имају висок проценат оклузија, што може имати озбиљан утицај на пацијенте. Статистике указују на следеће стопе оклузије:

3-12% оклузија се јавља пре самог отпуста из болнице.

У првој години након операције, око 8-25% графтова исказује знакове оклузије.

Након 10 година, чак 50-60% графтова може постати оклузивно.

Срећом, напредак у хируршкој техници и фармакотерапији је побољшао дугорочну трајност аутовенских графтова. Скорашње студије су пријавиле значајно побољшану патентност аутовенских графтова, са стопом од чак 91% након 8 година (164). Упркос значајном напретку у медицинским процедурама, још увек постоји знатан број пацијената који ће захтевати додатне операције у првих 10 година након коронарне бајпас хирургије (CABG). Процењује се да око 13% пацијената који су подвргнути хируршкој реваскуларизацији миокарда (CABG) ће имати потребу за поновним захватом.

Осим тога, неки пацијенти се подвргавају перкутаној коронарној интервенцији (*PCI*) након *CABG*. Чак 18% свих *PCI* процедура се изводи на пацијентима који су већ прошли *CABG*, а око 6% свих *PCI* процедура се изводи на венским графтовима. Ови подаци указују на потребу за поновном реваскуларизацијом код одређеног броја пацијената након *CABG* процедуре. Иако постоји побољшање у дугорочном очувању проходности аутоvensких графтова, проблем оклузије и потребе за поновним интервенцијама након *CABG* остаје изазов са којим се суочавају како пацијенти, тако и хирурзи. Свеобухватно разумевање ових фактора и наставак истраживања у циљу унапређења дугорочних исхода је од суштинског значаја за даљи напредак у коронарној хирургији. (165). Иако се често користи за третирање стеноза, хируршка реваскуларизација миокарда може се суочити с одређеним изазовима када постоје хемодинамски незначајне стенозе. У овим случајевима, аутоvensки графтови су посебно подложни раном затварању (оклузији), што може бити резултат конкуренције у протоку између графта и постојеће артерије. Ова конкуренција може довести до губитка функционалности графта у релативно кратком временском периоду. На пример, у једној студији спроведеној на 164 пацијента, *Botman et al.* су пријавили значајно вишу стопу оклузије аутоvensких графтова након годину дана код пацијената који су имали *CABG* на коронарним артеријама са *FFR* (*Fractional Flow Reserve*) већом од 0.75 у поређењу са онима чије су артерије имале *FFR* мањи од 0.75. Прецизније, стопа оклузије графтова је износила 20.9% код пацијената с *FFR* већом од 0.75, док је била значајно нижа, 5.9%, код пацијената са стенозама чије је *FFR* било мање од 0.75. Ови подаци сугеришу да се стенозитети са хемодинамски незначајним *FFR* вредностима могу показати као већи изазов у одржавању функционалности аутоvensких графтова. Ово је посебно важно јер хемодинамски незначајне стенозе често нису подложне интервенцијама као што је ангиопластика. Ови налази указују на потребу за пажљивим одабиром места за бајпасирање како би се максимизовала дугорочна патентност и функционалност графтова у *CABG* процедурама (164).

Квалитет коронарних артерија игра значајну улогу у дугорочној патентности аутоvensких графтова коришћених у *CABG* процедурама. Графтови анастомозирани на артерије које су дифузно измењене, калцификоване и које показују слабији проток крви имају тенденцију да имају знатно вишу стопу оклузије. То значи да је функционалност графтова смањена када се анастомозирају на овакве артерије. На пример, у *PRAGUE-4* студији, графтови који су били анастомозирани на крвне судове који су били тотално оклудирани, осим левог антериорно-спуштајуће артерије (*LAD*), имали су најмањи

процент дугорочне патентности. Ова студија је указала на чињеницу да су графтови постављени на артерије које су потпуно зачепљене имали већи ризик од оклузије током времена. Такође, постоји разлика у ризику оклузије аутоvensког графта у зависности од места анастомозе. На пример, ризик од оклузије је већи када се графт анастомозира на десну коронарну артерију или циркумфлексну артерију у поређењу с анастомозом на *LAD (Left Anterior Descending Artery)*. Ово истраживање указује на значај селекције оптималног места анастомозе и пажљивог приступа приликом избора крвних судова како би се обезбедила дугорочна функционалност аутоvensких графтова у *CABG* процедурама (126). *Tomx et al.* извели су слично истраживање, али су поставили више вредности за *Fractional Flow Reserve (FFR)* као праг. У њиховој студији, пацијенти који су подвргнути хируршкој реваскуларизацији миокарда вођеној *FFR* (што представља процену протока крви кроз коронарне артерије), са постављеном границом вредности од 0,80 (што значи да су коронарне артерије са *FFR* вредностима мањим или једнаким 0,80 били кандидати за хируршку интервенцију, док они са *FFR* вредностима већим од 0,80 нису), показали су мању учесталост оклузије артеријских и аутоvensких графтова након периода од 36 месеци (5% у поређењу са 21%) у поређењу са пацијентима који су подвргнути реваскуларизацији на основу визуелне ангиографске процене стенозе. Ови резултати наглашавају важност употребе прецизних и квантитативних метода као што је *FFR* у доношењу одлука о хируршкој интервенцији. Овакав приступ може значајно смањити ризик од оклузије графтова и допринети дугорочном успеху коронарне реваскуларизације миокарда. (166).

Ово истраживање је од изузетног значаја јер указује на важност степена стенозе коронарне артерије на успешност реваскуларизације. Незаобилазни фактор успешности реваскуларизације је патентност графтова. Узроци ране оклузије графта може бити оперативна техника (траума графта за време препарације, лоше сашивена анастомоза), фактори везани за кондуит (патологија вене или mismatch између графта и коронарне артерије) или екстринзички фактори (хиперкоагулабилност). Тада говоримо о акутној тромбози графта. Механичке силе и исхемијско-реперфузиона повреда за време препарације и складиштења графта у медијуму могу резултовати денудацијом ендотела и оштећивањем глаткомишићних ћелија. Одлубливање ендотелног слоја ћелија доводи до експозиције екстрацелуларног матрикса и активације екстринзичке коагулационе каскаде од стране ткивног фактора коагулације. Смањена биорасположивост простациклина и *NO (Nitric Oxide)* доводи до вазоконстрикције и стазе крви, што даље

доводи до акумулације фибрина, адхерирања и активације неутрофила и тромбоцита на површини лумена и формирања тромбних маса. Интимална хиперплазија представља адаптивни одговор на повишен артеријски притисак, што је честа карактеристика општег артеријског циркулације и процес који се често назива артеријализацијом. Овај феномен обично се манифестује неколико месеци након хируршке реваскуларизације миокарда. Иако може узроковати благо сужење лумена, ретко доводи до значајног раног сужења. Активирани тромбоцити играју кључну улогу у овом процесу, ослобађајући различите молекуле, укључујући цитокине (као што су *IE-1* и *IE-6*) и факторе раста (као што су *PDGF* и *TGF-β*), што даље стимулише пролиферацију глатких мишићних ћелија. Истовремено, активација коагулације доводи до формирања тромбних маса и таложења фибринских полимера. Тромбин директно и посредно стимулише пролиферацију глатких мишићних ћелија путем ослобађања *PGDF* из тромбоцита. Након тога, неоендотелијум се формира дуж рубова оштећених подручја, путем миграције и размножавања ћелија ендотела преко слоја тромбоцита и фибрина. Отприлике четири дана након постављања графта, пролиферација глатких мишићних ћелија достиже свој врхунац, а ове ћелије пролазе кроз промене у својим карактеристикама, прелазећи из стања контракције у синтетичко стање, што је слично фибробластима. Након тога, ове ћелије мигришу у интимални слој. Разумевање механизма интималне хиперплазије је од суштинског значаја за унапређење дугорочних исхода пацијената након коронарне хируршке реваскуларизације миокарда. Интимална хиперплазија се даље развија због излучивања екстрацелуларног матрикса, који се састоји од колагена, еластина, гликопротеина и протеогликана. Фибробласти са високом стопом размножавања из адвентиције, спољног слоја крвних судова, мигрирају у интимални слој и трансформишу се у миофибробласте, доприносећи задебљању тог дела стене. Ови процеси обично почињу на месту где се стварају спојеви између крвних судова, познати као анастомозе, а потом се шире кроз читав аутоvensки графт. У том развоју интималне хиперплазије, учешће имају и ћелије урођеног имуног система, попут макрофага и природних убица. Интимална хиперплазија представља основу за развој атеросклерозе, која може створити пут ка каснијој оклузији графта. Атеросклероза аутоvensког графта напредује брже него атеросклероза природних коронарних артерија. Атеросклероза на графту обично има концентрични и шире распрострањени карактер, са мање јасно дефинисаном, па чак и одсутном, фиброзном капом на плаку, што је разлика у односу на плакове на природним артеријама. Ови плакови су подложнији пуцању, што додатно компликује ситуацију. Атеросклеротске промене аутоvensког графта се јављају већ годину дана након

хируршке реваскуларизације и започиње акумулацијом пенастих ћелија праћеном развојем некротичног језгра, што се типично види 2.5 година након операције, често формирајући лезије које дају умерену стенозу. Након овог периода, некротично језгро се мења по типу крварења из крвних судова насталих неоангиогенезом што доводи до руптуре плака, дисталне емболизације и формирања тромбних маса што може да доведе до акутног инфаркта миокарда као и до оклузије графта (167).

Sasaki et al. су истраживали патохистолошке промене на сафенским венама које су кориштене за аутоvensке графтове при аорто-коронарној реваскуларизацији миокарда. У истраживању, прегледани су узорци сафенских вена из осам случајева пацијената који су преминули између два дана и девет месеци после операције. Такође, узорци некропсираних анастомотских спојева и неимплантираних вена били су укључени у студију. Резултати су показали да су ране патохистолошке промене укључивале губитак обложног ендотела, агрегацију елемената крви, појаву специфичних ћелија, као и неоинтимализацију туника интима. Најраније промене су уочене 6-9 дана после операције, када је присутна била неоинтима са макрофагама и ћелијама вретенастог облика. Неоинтима је била виментин позитивна, али актин негативна. Девет месеци после операције, ендотел је регенерисан, а неоинтима је била састављена преима глаткомишићним ћелијама. Макрофаги су ретки унутар неоинтима, није било пролиферације и Т лимфоцита. Контролне сафенске вене су показале глаткомишићне ћелије унутар медије позитивне за *HNF-35* и *CGA-7*, док је интима била једва приметна. Ове налазе сугеришу да се патохистолошке промене у сафенским венама јављају рано након трансплантације и подсећају на значајне аспекте неоинтимализације и регенерације ендотела у контексту кардиохирургије. (168).

Употреба генске технологије представља нову стратегију за превенцију атеросклеротске болести венског графта. Тренутне методе лечења ове болести укључују антикоагулацију, поновну хируршку реваскуларизацију миокарда (*REDO*) и перкутане коронарне интервенције (*PCI*). Приступ реваскуларизацији након коронарне артеријске бајпас операције (*CABG*) треба да буде прилагођен индивидуалним потребама пацијента. Атеросклероза сафенског венског графта може ограничити проходност графта и изазвати проблеме у срцевом крвотоку. Антикоагулација, која укључује употребу антикоагуланса (лекова који спречавају згрушавање крви), може бити примењена за смањење ризика од стварања угрушака у графту. У случају развоја атеросклерозе и ограничене проходности

венског графта, хируршка реваскуларизација миокарда (*REDO*) или перкутане коронарне интервенције (*PCI*) могу бити примењене за отклањање блокада и побољшање крвотока у срцу. Ови хируршки захвати могу бити ефикасни у обнови проходимости артерија и графтова. Са друге стране, генска технологија отвара нове могућности за лечење и превенцију атеросклерозе. Применом генске терапије, могу се мењати генске секвенце или изражај гена како би се утицало на основне процесе узроковања атеросклерозе и побољшало здравље крвних судова. Уколико се примени генска технологија, могу се истраживати нови лечења и превентивне мере које би директно утицале на молекуларне и генске механизме атеросклерозе. Овакви приступи отварају могућност за персонализовано лечење и превенцију, прилагођене специфичним потребама сваког пацијента. (169).

О ХИСТОЛОГИЈИ ВЕЛИКИХ САФЕНСКИХ ВЕНА

У хистолошкој грађи узоркованих великих сафанских вена, констатована је изузетна хетерогеност у структури компоненти зида анализираних крвних судова, укључујући дебљину појединачних слојева интима, медије и адвентиције, бројност и развијеност слојева глатког мишићног ткива, као и организацију глатког мишићног ткива у различитим деловима зида вене. Треба напоменути да су и други аутори забележили ову значајну варијабилност (81,170). Потребно је истаћи да управо због ове варијабилности, у доступној литератури, постоји и релативно велика хетерогеност по питању дидактичког дефинисања структуре великих сафенских вена. Нека од ових питања тичу се грађе тунике интима и питања дефинисања њене „нормалности“ у контексту њене дебљине и састава, а са тиме и коришћених појмова и релација; док се друга тичу дефинисања састава и граница глаткомишићне компоненте ових крвних судова, а тиме и дефинисања састава њихове тунике медије. Наиме, прво питање је посвећено појму хиперплазије тунике интима великих сафенских вена. Код конвенционално нормално фенотипа структуре зида великих сафенских вена, туника интима је најужи профил структуре зида крвног суда, уједно и равномерне дебљине, са релативно малобројним ћелијама у субендотелном везивном ткиву, које припадају категоријама миоендотелних ћелија, миофибробласта и уздужно оријентисаним глаткомишићних ћелијама. Појам хиперплазије интима опет, је један од најразноврсније посматраних феномена у доступној литератури, а односио би се на асиметрично

задебљање тунике интима. Међутим, од изузетног значаја је и састав тунике интима у овим регионима. Наиме, *Franz* и сарадници, за морфологију фокално задебљале тунике интима у случају да не садрже обиље гликозаминогликана (потврђено употребом Моватовог пентахрома) и лонгитудинално оријентисане снопове глаткомишићних ћелија, користе термин „интимални јастучићи“ и подвршћују је у нормалну, нехиперпластичну, структуру зида вене. Међутим, уколико је маса субендотелног ткива, у подручју задебљања тунике интима, богата гликозаминогликанима обојеним Моватовим пентахромом, уз умањење броја глаткомишићних ћелија и уз поремећај регуларности организације ткива, онда се таква промена назива неоинтимом. *Milroy* и сарадници, за овакву морфологију тунике интима великих сафенских вена су дали раније још неколико израза као што су: интимална фиброза, неоинтимална фиброза, неоинтимална хиперплазија и формирање плака интима. *Cheanvechai* и сарадници, ову описану врсту измене тунике интима називају фиброплазија интима и децидно је дефинишу као растресито увећање („пролиферација“) везивног влакана колагена тунике интима, у повећању броја ћелија „вретенастог“ и „стелатног“ облика смештених у растреситом базофилном матриксу, богатом мукополисахаридима (гликозаминогликанима). Унутар фибропластично измењене тунике интима сафенских вена, како истичу ови аутори, нема атеросклерози налик промена по типу депозиције липида, крвни пигменти, или организовани тромби. Споменути аутори, такође истичу потребу да се терминологија јасно направи дистинкција између дегенеративних промена у субендотелном везиву тунике интима, за шта користе израз фиброплазија интима, према склеротизацији, фибрози целог зида вена, за шта употребљавају израз флебосклероза. Ова терминологија је прихваћена и коришћена у текстовима нашег истраживања.

По питању заступљености, развијености, дистрибуције и организације глаткомишићног ткива у зиду великих сафенских вена постоји консензус око присуства три концентрично слојевита вида организације глаткомишићног ткива у зидовима ових вена. Наиме, сви аутори описују унутрашњи слој снопова глаткомишићних ћелија лонгитудиналне организације, циркуларни слој и спољашњи слој снопова глаткомишићних ћелија лонгитудиналне организације. Међутим, постоји релативно велика варијабилност по питању развијености ових слојева као и односа према другим структурним компонентама зида сафенских вена, све до слике индивидуалне специфичности сваког узорка понаособ, као што је то било виђени и у материјалу овог

истраживања, тако да су и други аутори, релативно различито извештавали о дидактичкој припадности споменутих мишићних слојева у зиду ових вена. Код једне групе аутора, само се циркуларна оријентација снопова глаткомишићног ткива сматра туником медијом, док се друга два лонгитудинална оријентације подвршћују у суседне тунике, унутрашњи у подручје тунике медије, а спољашњи, у подручје тунике адвентиције. Други аутори извештавају да је спољашњи лонгитудинални мишићни слој, заправо подслој тунике медије и да је ограђен, од периферно постављеног везивног ткива адвентиције, вишеслојном спољашњом еластичном мембраном (78,81), као што је то виђено и у нашем истраживању. Унутрашњи лонгитудинални глаткомишићни подслој зида великих сафенских вена по већини аутора, налази се унутар субендотелног везива тунике интима ових крвних судова. Различита је развијеност глаткомишићног ткива унутрашњег глаткомишићног подслоја сафенских вена, некада у виду појединачних лонгитудинално оријентисаних глаткомишићних ћелија, као у код зидова вена конвенционално нормалне грађе, са танком туником интимом, а опет, са сноповима изразите развијености и значајне заступљености у туници интими вена које показују и већу дебљину тунике интима, по типу интималних јастучића (*Franz*). У нашим материјалима, евидентиран је пуни распон раније описиваних конституција заснованих на степену развијености унутрашњег глаткомишићног подслоја зида сафенских вена, као и односа према развијености и саставу субендотелног везивног ткива тунике интима. Приде, на попречним пресецима узорака нашег истраживања, углавном је уочљиво присуство јасно дефинисане границе тунике интима према споља, у виду нешто задебљале унутрашње еластичне мембране иако, мембранозне организације, само слабије развијености, еластичне компоненте се могу наћи у саставу не само између снопова глаткомишићног ткива циркуларног подслоја медије, већ и као везивоткивне компоненте субендотелног ткива тунике медије.

Услед недостатка позитивног означавања гликозаминогликана на Моватовом бојењу, ови интимални јастучићи који често протрудирају били су веома богати колагеном и такође су показивали лонгитудинално постављене глаткомишићне ћелије.

Не постоји униформан став да се интимални јастучићи разликују од интималне хиперплазије. Наша анализа такође показује да су добор развијени интимални јастучићи одраз целокупне дебљине целог зида која сама по себи директно корелира са дијаметром вене, тако да већи дијаметар са дебљим зидом вене има израженије интималне јастучиће. Позитивна корелација између дебљине интималног слоја и дебљине медије, као и између

дебљине зида и дијаметра вене потврђују претходне податке. Ово пропорционално повећање димензија такође наглашава чињеница да су вене малог дијаметра ретко када дебљег зида.

Сагледавањем ставова о хистолошкој грађи из доступне литературе, као и евидентирањем морфолошких налаза на нашим материјалима, све идентификоване варијације у грађи зида великих сафенских вена, доводе до класификације ових крвних судова у пет различитих хистолошких фенотипова: 1) конвенционално нормални фенотип, 2) вене са хиперплазијом глатког мишићног ткива у интими, без присуства фиброплазије и флебосклерозе, 3) вене са хиперпластичном и фибропластично измењеном туником интимом, без флебосклерозе, 4) вене са фибропластично измењеном туником интимом, са фокалном флебосклерозом и 5) вене са фиброплазијом тунике интима са унапредовалом флебосклерозом.

Релативно мали број узорака сафенских вена (40/200 узорака) показује морфологију конвенционално нормалног фенотипа (81), са структуром тунике интима која се налази унутар очекиваних граница нормалности, односно без хиперплазије и фиброплазије. Ови узорци имају уски профил субендотелног везивног ткива и карактеришу се присуством само неколико глатких мишићних ћелија које су распоређене циркуларно, близу и паралелно с ендотелним ћелијама – миоендотелне ћелије. Такође, у дубљим слојевима субендотелног везивног ткива могу се приметити појединачне глатке мишићне ћелије које су оријентисане уздужно (81,170). Унутрашњи лонгитудинални слој, који се практично сматра делом интима, готово да није присутан у узорцима с уском интимом. Међутим, код узорака с хиперпластичном интималном структуром, овај слој је значајно развијен и представља се као много глатког мишићног ткива, укључујући углавном и ћелије које су уснопљене и оне које нису. Ове ћелије су оријентисане уздужно и раздвојене екстрацелуларним матриксом субендотелног везивног ткива. Већина узорака (160/200 узорака) показује значајно задебљање тунике интима, што може бити резултат или хиперпластичне глаткомишићне структуре или фибропластичне интима. Слично, више група аутора (170,171), које су спровеле сличне хистолошке студије, су забележиле да мали број венозних узорака у њиховим истраживањима показује хистолошку структуру зида која одговара описаној нормалној структури. У многим узорцима, примећена је присутност фиброзе у интими, која укључује еластично ткиво и укључене глатке мишићне ћелије. Према студији *Thiene et al.* (171), чак 70% сафенских вена показује промене које указују на фиброзу у тунници интима. Дебља интима и

присутност фибропластичне морфологије често су карактеристичне за зид вене са флебосклерозом. Фиброза интима, такође позната као неоинтимална фиброза, неоинтимална хиперплазија или формирање плака у интималном слоју, може бити присутна у тим венама. Важно је напоменути да се атеросклероза у зиду сафенских вена обично јавља као касна промена и само након трансплантације, на темељу претходних промена које су постојале у сафенским венама пре узорковања. Упркос знатним варијацијама у конституцији сафенских вена пре трансплантације, аутологне трансплантације са циљем побољшања аортокоронарног протока углавном су успешне и одржавају одговарајућу комплијансу (170,172). Флебосклеротичне промене у великим сафенским венама карактерише поступно и спорадично задебљање интима, типично фибросклеротичне природе, без истовременог повећања субендотелне ћелијске пролиферације (173). Ове промене могу бити присутне као фокалне или дифузне промене које се протежу кроз зид сафенских вена. Током времена, ове промене доводе до атрофије и значајног смањења глатког мишићног ткива медије, посебно циркуларног слоја. Сличне промене се такође опажају у зидовима варикозних вена, што указује на то да флебосклеротичне промене могу бити последица постепеног повећања интравенског притиска крви. Треба напоменути да се флебосклероза јавља и код млађих пацијената, без обзира на просечну старост пацијената с нормалним или промењеним венским графтовима. *Cheanvechai et al.* (78) наглашавају важност хистолошке разлике између флебосклерозе и фиброплазије, која је често присутна у сафенским венама кориштеним као графтови. Фиброплазија интима карактерише накупљање екстрацелуларног матрикса искључиво у интимном слоју, што резултира повећањем дебљине интима и сужавањем лумена. Ова промена обично укључује присуство различитих глатких мишићних ћелија (како су доказали *Milroy et al.* помоћу имунохистохемијског бојења за дезмин) које имају вретенасти или стелатни изглед и налазе се у базofilном матриксу с распршеном конзистенцијом. Хистохемијска бојења алцијан плавим и колоидним гвожђем обично показују присуство киселих гликозаминогликана у овом матриксу. Трихромско бојење по *Mason*-у открива присуство колагена (78). Електронскомикроскопска испитивања ове регије показала су присуство ћелија са морфологијом глатког мишићног ткива (174). У венама које задржавају нормалан изглед, не примећује се повећање колагена нити задебљање зида (78). Како венски зид фиброзира, повећава се присуство дегенеративних еластичних структура у матриксу, иако ове промене нису јасно видљиве на рутинским препаратима обојеним хематоксилином и еозином. Еластоза, међутим, често прати флебосклерозу (173).

Дијагноза флебосклерозе се поставља на основу повећаног таложења колагена и повећања дебљине венског зида, што је видљиво и на препаратима обојеним хематоксилином и еозином. У случају благе флебосклерозе, промене су фокалне природе. У случају умерене флебосклерозе, фиброза је израженија и има тенденцију дифузније дистрибуције. Потребно је напоменути да у овој студији посебно је истраживан облик задебљања интима који се карактерише хиперплазијом глатког мишићног ткива, а не фиброплазијом. У овом облику превладавају глатке мишићне ћелије, које су бројне и добро развијене, и имају правилан уздужни распоред у субендотелном везивном ткиву. Овај облик задебљања интима припада хистолошком фенотипу 2 у проучаваним венама. Ово истраживање је посебно фокусирано на раздвајање ова два типа конституција зида сафенских вена, како би се размотрила могућа хронолошка повезаност у патогенези венске зидне фиброзе. Претпоставља се да у процесу развоја, бројне глатке мишићне ћелије у хиперпластичној интими, током времена, својом секреторијском активношћу могу стварати повећане количине екстрацелуларног матрикса унутар интима, а самим тим, подлећи атрофији, што доводи до формирања фибропластичног облика интима. С друге стране, могуће је да "хиперпластични" облик интима представља инхерентну нормалну конституцију зида сафенских вена која је богата мишићном масом.

Општи утисак добијен из анализе попречних пресека зида великих сафенских вена је да је циркуларни слој тунике медије најстабилнији елемент грађе (81), док су значајне варијације присутне у конституцијама тунике интима и спољашњег лонгитудиналног слоја медије. Циркуларни слој тунике медије, како је раније поменуто, увек је присутан у зиду великих сафенских вена и састоји се од уснопљених глаткомишићних ћелија оријентисаних циркуларно (170). У случају вена које показују фиброплазију интима и флебосклерозу као део дегенеративних промена, примећено је раслојавање снопова глатког мишићног ткива у циркуларном слоју, често праћено фокалном атрофијом мишићног ткива овог слоја. Глатко мишићно ткиво спољашњег лонгитудиналног слоја медије углавном је организовано у снопове глаткомишићних ћелија (знатно мање појединачних ћелија), а доминира у подручју широке и вишеслојне еластике у екстерној мембрани. Ретко се налази периферно, у подручју адвентиције. Изразита развијеност спољашњег лонгитудиналног слоја тунике медије, као што су и *Milroy et al.* описали (81), била је примећена у петини проучаваних узорака великих сафенских вена. Ова појава је углавном присутна код вена чија туника интима показује

хиперплазију глаткомишићних ћелија. Ова коинциденција вероватно представља део специфичног хистолошког фенотипа који карактерише вене с изразито мишићним зидом. Иако интима ових вена може оставити утисак хиперпластичне морфологије, према важећим нормативима, она, међутим, не показује дегенеративне промене типа фиброплазије. Према томе, ова конституција зида вене у целини треба да се сврста у групу вена које се могу сматрати нормално грађеним зидом. Важно је напоменути да спољашњи лонгитудинални слој тунике медије, чији је положај одређен неким ауторима као адвентицијални (81,171), у нашем материјалу, чак и када је изразито развијен, налази се унутар спољашње еластичне мембране. Еластичне ламеле су распоређене између снопова глатког мишићног ткива према циркуларном слоју и према адвентицији. Из овог угла гледано, спољашњи лонгитудинални слој глатког мишићног ткива сафенских вена чини део медије, а не адвентиције. Испитивање утицаја дебљине зида сафенског графта на процентуално очување интегритета ендотела је извршено упоређивањем целокупне површине попречних пресека исечака сафенских вена са морфометријски израчунатом циркумференцом површине лумена са обојеним адхерираним *CD34* антителима. Није нађена статистички значајна корелација између дебљине зида сафенске вене и очувања интегритета ендотела приликом коришћења било ког од наведених раствора. Приликом упоређивања резултата између групе пацијената оболелих од дијабетес мелитуса и групе пацијената незахваћене овим ендокринолопким поремећајем дошло се до закључка да су вредности *CD34* са (%) у целом узорку нешто су више у групи пацијената без ДМ, али није утврђена статистички значајна разлика, те да не постоји инфериорност употребе било ког од наведених раствора код пацијената са дијабетес мелитусом. Такође није показана корелација између вредности *HbA1c* и очувања интегритета ендотелних ћелија исечака сафенских вена методом *CD34* бојења.

У каснијим фазама овог процеса долази до смањења апоптозе глаткомишићних ћелија што доводи до продубљивања структурних промена венског зида. Смањење популације глаткомишићних ћелија одговара повећању експресије *p21* у проксималним сегментима сафенске вене указујући да поремећаји ћелијског циклуса могу да доведу до слабости проксималног дела сафенске вене (175) Обзиром да је у овом истраживању фактор искључивања био варикозна болест доњих екстремитета ови механизми се не могу узети здраво за готово. Упоређивањем квантитативних вредности очувања интегритета ендотелних ћелија бојењем *CD34* антитела са бројем слојева глаткомишићних ћелија у зиду сафенске вене, већа је вредност у групи узорака са три

него са два слоја глаткомишићних ћелија, али ипак није утврђена статистички значајна разлика.

Просечна сафенска вена коришћена за аортокоронарни бајпас је 31 *cm* дугачка са просечним дијаметром од 4.2 *mm* и дебљином зида од 445 *mm* и интималним јастучићима од 64 *mm*. Изражене неправилности су резултат неједнаке дистрибуције бочних грана и чињенице да просечна сафенска вена има 1.9 промена лумена до 20% и 1.2 промена лумена већих од 40%. Рутинска испитивања узорака ткива светлосном микроскопијом бојених хематоксилином и еозином, еластичним Масоновим трихромним бојењем (ради одређивања граница слојева) и Моватовим бојењем (ради дистинкције између интималне хиперплазије и нехиперпластичних интималних јастучића).

Код *Human et al.* (176), просечна вредност спољашњег дијаметра, појединачних потпуно дистендованих великих сафенских вена је дефинисана на 4.2±0.6 *mm* (са распоном вредности 2.0 *mm* до 7.0 *mm*), са просечном дебљином зида од 445 μm . Код пацијената је била статистички значајно већа просечна вредност спољашњег дијаметра вена (4.3±0.6 *mm*) према 3.9±0.5 *mm* код пацијенткиња. Просечна дебљина тунике интима вена дата је као 64.0±46.5 μm , крећући се од најмањих, са 9.3 μm , до изразите дебљине (у подручју интималних јастучића) од 275.2 μm . У њиховом истраживању начињена је подела узорка вена према дебљини тунике интима, са граничном вредношћу од >80 μm према категорији вена изразите дебљине тунике интима, што је код њих обухватило 28% свих узорака. У подгрупи сафенских вена дебеле интима површина попречног пресека туника интима у просеку је износила 1.32 - 0.43 mm^2 (а просечна вредност дебљине 119.8 ± 28.0 μm), док је у групи вена са тањом интимом (72% узорка) та вредност била 0.44 ± 0.22 mm^2 (а просечна вредност дебљине 40.1 ± 18.2 μm). У групи вена са већом дебљином тунике интима, нађена је и статистички значајно већа је укупна дебљина зида вена (код дебљих 565.7 ± 138.4 μm према тањим 398.7 ± 123.2 μm), што је било праћено пропорционалним повећањем дебљине друга два слоја (медије дебелих 207.3 ± 65.9 μm према танким 159.2 ± 65.4 μm ; и адвентиције дебелих 236.7 ± 96.1 μm према танким 195.6 ± 68.7 μm). Код Франца и сарадника, спољашњи дијаметар је био мерен калипером, а вене су биле интраоперативно складиштене у хепаринизованој аутологној крви.

У нашем материјалу, дебљина тунике интима је била у распону вредности од 16 до 262 μm , са просечном вредношћу од 112 ± 66 μm . Вредности дебљине циркуларног подслоја тунике медије кретале су се од 69 до 487 μm , са просечном вредношћу од 228 ±

70 μm . Дебљина спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја, имала је вредности у распону од 25 до 293 μm , са просечном вредношћу од $100 \pm 73 \mu m$. Дебљине зида вена биле су у распону од 190 до 669 μm , и просеком од $441 \pm 108 \mu m$. У нашим резултатима, спољашњи дијаметар сафенских вена, био је у распону, изражено главним Феретовим дијаметром (1.654 до 4.302 mm), а минорним Феретовим дијаметром (1.270 до 3.528 mm), са просечном вредношћу за главни Феретов дијаметар $2.778 \pm 0.656 mm$, а за минорни Феретов дијаметар $2.133 \pm 0.391 mm$. Површина тунике интима, у нашем материјалу, била је у распону вредности од 0.174 до 2.651 mm² и просечном вредношћу од $0.948 \pm 0.645 mm^2$. Употребом Пирсоновог теста статистичке корелације, забележена је статистички значајна негативна корелација између вредности процентуалног удела површина туника интима (*Area%IntXor*), са процентуалним уделом површина циркуларног подслоја (*Area%CirXor*) великих сафенских вена, такође и између вредности процентуалног удела површина спољашњег уздужног мишићног подслоја (*Area%SpLonXor*) са вредностима проценталним уделом површина циркуларног подслоја тунике медије (*Area%CirXor*) у укупној површини зида великих сафенских вена. Овакав однос између споменутих параметара, говори у прилог законитости организације структуре зида великих сафенских вена, при којој, крупнија конституција било које од споменутих компоненти, у укупном саставу зида вене је у комбинацији са мањом конституцијом друге две компоненте.

Choi et al. су употребом тродимензионалне компјутерске томографске венографије су код 152 пацијента (213 ногу), нашли просечни дијаметар велике сафенске вене, на 5 центиметара дистално од сафено-феморалне јункције, да је $5.11 \pm 1.20 mm$ код пацијената без венозног рефлукса (177). *Molnar et al.* на узорку од 32 велике сафенске вене, калиперским мерењем, налазе да је просечна вредност унутрашњег радијуса нормалних вена из њихове $1.70 \pm 0.12 mm$, мере на 10 mmHg (дистендованим нормалним Кребс-Рингеровим раствором) интралуминалног притиска, а да је дебљина зида просечно $408 \pm 17 mm$ (178). *Joh et al.* су употребом колорног дуплекс ултразвука утврдили, код великих сафенских вена, без знакова рефлукса, вредност просечног дијаметра од $5.0 \pm 2.4 mm$ (179). *Cenkeri et al.* су колор доплер ултрасонографијом, на 194 ноге пацијената, на нивоу сафено-феморалне јункције, утврдили просечну вредност дијаметра великих сафенских вена на 5.51 mm, а 4.08 mm, за предео бутине и 3.47 mm у пределу потколенице (180). *Gibson et al.* налазе мерењем на дуплекс ултразвучном прегледу 91 пацијента (19 мушкараца и 72 жене, распон животних доби за све пацијенте

18-65 година), да је просечна вредност максималног дијаметра велике сафенске, у стојећем ставу пацијената, а на нивоу 5 центиметара од сафено-феморалне јункције, 6.7 mm (са распоном вредности од 2.2 до 14.1 mm) (181).

Ултразвучим прегледом 204 доња екстремитета пацијенткиња, Енгелхорн и сарадници, утврђују просечну вредност дијаметра великих сафенских вена, при сафено-феморалној јункцији, на 6.5 mm , у проксималном делу бутине 4.0 mm , 3.0 mm у дисталном делу бутине и заколеној јами, а 2.5 mm у потколеничном делу ноге (182).

Манета и сарадници, обавили су компарацију резултата добијених преоперативним ултразвучним прегледом 72 велике сафенске вене и мерења истих након њихове препарације у својству графтова за употребу у сврхе извођења аорто-коронарног бајпаса. Дијаметар вена је мерен на три различите локације, проксималном, средишњем и дисталном крају будуће дисекованог сафенског графта. Просечне вредности дијаметра вена су биле ултразвучно $3.4 \pm 0.9 \text{ mm}$ и $4.6 \pm 0.9 \text{ mm}$ мерењем након дисекције. Аутори налазе да је стварна величина великих сафенских вена, у просеку, за $1.2 \pm 0.4 \text{ mm}$ већа него мерено ултразвучно (183).

Perek et al. са циљем да утврде чиниоце у структури великих сафенских вена које су од предиктивног значаја за развој ране болести графта, на узорцима великих сафенских вена припремљеним за светлосну микроскопију и електронску микроскопију, узетих од 365 пацијената, подвргнутих аорто-коронарном бајпасу су обавили морфометријску анализу, мерењем дебљине и површине зида венских судова, дебљину тунике интима, медије и адвентиције, као и број и облик једара глаткомишићних ћелија тунике медије. Здравствено стање пацијената је праћено 41 до 50 месеци постоперативно. Код 71 пацијента нађене су значајне лезије графтованих великих сафенских вена, а код њих је такође преоперативно била забележена статистички већа дебљина од 437.5 mm у односу на дебљину вена без касније болести графта од 405.5 mm ; дебљина тунике медије је била 257.2 mm према 211.5 mm , површина пресека целог зида вена 2.23 mm^2 према 2.02 mm^2), а површина тунике медије са статистички значајном разликом 1.09 mm^2 према 0.93 mm^2 . Аутори налазе да су туника медије веће дебљине са крупним једрима глаткомишићних ћелија, независни фактор ризика за каснији развој болести графта (184).

Ratua је у својој докторској дисертацији, уз употребу антропометријских анатомских метода, изучавао метричке особине великих сафенских вена, употребљавајући као мерни инструмент, калипер. Истраживање је обављено на 50 доњих удова кадавера, при чему је утврђен распон вредности спољашњег дијаметра великих

сафенских вена у висини бутине, од 0.2 до 0.4 *cm*. Просечна вредност овог параметра је била 0.29 *cm*. Интересантно, овај аутор налази да је просечна вредност спољашњег дијаметра била већа код вена узетих из кадавера женског пола, наиме 0.317 *cm*, него код кадавера мушког пола (0.29*cm*). У потколеничном региону, спољашњи дијаметар великих сафенских вена био је у распону од 0.3 до 0.5 *cm*, са просечном вредношћу од 0.38 *cm* и без полних разлика (196).

Langes et al. закључују да различита задебљања туника интима великих сафенских вена, нису од утицаја на степен проходности ових вена коришћених у својству аутологних аорто-коронарних графтова (185).

Lee et al. полазећи од претпоставке да је хиперплазија туника интима вена комплексан процес, који у својој патогенези има почетно оштећење, што коначно може довести до слабијих резултата њене употребе у својству аутологног венског графта. Они полазе од претпоставке да затечена дебљина тунике интима великих сафенских вена јесте предиктор ендотелне дисфункције и потенцијално хиперплазије интима. Ови аутори су на великим сафенским венама, узоркованих као аутографтови за аорто-коронарно премешавање, и уз хистотехнолошку обраду, ткивне узорке бојили Ферхоф-ванГизоновом методом. Микроскопске слике су морфометријски анализирани, за потребе утврђивања, дељине туника интима на попречним пресецима вена, као и дебљине туника медија. Они налазе широки распон дебљина туника интима од 18.80 до 241.3*µm*. Такође, ови аутори указују да затечена дебљина туника интима великих сафенских вена, већа од 120*µm* има статистички значајно већу дисфункцију ендотела у односу на вене чија је дебљина тунике интима била испод вредности од 120*µm* (186).

Морфологија вене пре трансплантације означена је као фактор ризика за каснију оклузију сафенског венског графта. Контроверзно је да ли је микроскопско задебљање унутрашњег слоја у узорцима биопсије сафенске вене повезано са повећаним ризиком од неуспеха графта. Циљ ове студије био је утврдити учесталост претходног задебљања унутрашњег слоја у макроскопски нормалној вени пре трансплантације и проценити да ли је дебљина унутрашњег слоја вене пре трансплантације предвиђала будућу стенозу венског графта.

Као део сталног протокола, узорци вена пре трансплантације добијени су приликом примарне операције. Рутинска коронарографија идентификовала је 14 пацијената који су захтевали оперативну ревизију због озбиљне стенозе графта ($n = 12$) или потпуне оклузије графта ($n = 2$). Узорци су обојени *Verhoeff*-овим бојењем како би

се одредила унутрашња еластична ламина. Извршена је морфометријска анализа узорака вене пре трансплантације. Резултати су упоређени са контролном групом од 13 узорака вене пре трансплантације изабраних из пацијената чији су графтови остали пролазни и слободни од стенозе. Преоперативни фактори ризика били су идентични између ове две групе. Средња дебљина унутрашњег слоја у свих 27 узорака мерена је од стране два слепа посматрача. Скоро 50% узорака показивало је изражено задебљање унутрашњег слоја ($>0,08mm$). Средња дебљина унутрашњег слоја вене пре трансплантације у групи са стенозом износила је $0,108\pm 0,155mm$ у поређењу са $0,100\pm 0,064mm$ за контролну групу ($p = 0,866$). Иако су макроскопски нормалне вене пре трансплантације често показивале изражено микроскопско задебљање унутрашњег слоја, дебљина унутрашњег слоја вене пре трансплантације, одређена на основу рандом биопсије сафенозне вене приликом примарне операције бајпаса ноге, није предиктивна за каснији развој стенозе графта вене (190).

Милутиновић и сарадници, су истраживали пролазност венских графтова употребљених при аорто-коронарној реваскуларизацији миокарда, зависно од степена хипооксије употребљене хируршке методе узорковања великих сафенских графтова, наиме, конвенционално отворене или ендоскопске методе. Степен оштећења је процењиван на основу денудације ендотела која се очекује између тренутка узорковања вена и њихове имплантације. Двадесет шест великих сафенских вена било је подељено у групу узорковану отвореном хируршком методом ($n = 16$) и ендоскопском методом ($n = 10$). По три узорка су узета од сваке вене. Први узорак је узет непосредно након венотомије, други, пре имплантације дисталног краја, а трећи након имплантације проксималног краја. Ткивни материјали су обрађени до парафинизације и обојени са хематоксилин-еозином, Моватовим пентахромском методом и имунохистохемијски на CD31. Значајан губитак ендотелних ћелија у обе групе је забележен у време имплантације дисталног и проксималног дела венског графта, упоређено са делом вене узоркованом у време венотомије. Није било разлика по питању очуваности ендотела у односу на примењену методу венотомије у време узорковања графта и пре имплантације дисталног краја. Очуванији ендотел је забележен у ендоскопској групи у односу на отворену методу, а пре имплантације проксималног краја. Статистичка компарација показује значајнији губитак ендотелног покрова у групи отвореног типа. Будући да су спменути аутори морфометријски дефинисали стање ендотела изражавајући га кроз број ћелија по милиметру дужине унутрашњег обода тунике интимае, резултати изражени на

такав начин нису директно компарабилни са нашим резултатима, који исказују стање у ендотелу туника интима великих сафенских вена, процентуално (195) .

Закључак

На основу резултата овог истраживања, њиховог тумачења и на основу података из доступне домаће и светске научностручне литературе, могу се извести следећи закључци.

Употреба свеже замрзнуте плазме, у својству раствора за интраоперативно складиштење венских кондуита, показала је најбоље резултате по питању очувања интегритета ендотела туника интима великих сафенских вена, приближно ефекту хепаринизоване аутологне крви, што је доказано статистички значајно вишим вредностима процентуалне заступљености имунохистохемијске маркираности ендотела туника интима изучаваних вена на антиген *CD34*, у односу на ефекте хепаринизованог физиолошког раствора и *Bretschneider*-овог раствора. *Bretschneider*-ов раствор је показао најслабије ефекте по питању очувања ендотела сафенских венских графтова, са вредностима процентуалне заступљености *CD34*, двоструко нижим у односу на забележене вредности при процени ефеката свеже замрзнуте плазме, као раствора за интраоперативно складиштење венских кондуита.

Није забележена статистички значајна разлика у очувању интегритета ендотелних ћелија маркираних на *CD34* у односу на пол и присуство тип 2 дијабетеса испитаника.

Утврђено је да не постоји статистички значајна разлика у свим испитиваним случајевима у односу на пол и присуство тип 2 дијабетеса испитаника у погледу свих испитиваних морфометријских параметара великих сафенских вена.

Местимично или потпуно одсуство имунохистохемијског обележавања на антиген *CD34* туника интима, великих сафенских вена свих група утицаја примењених раствора за интраоперативно складиштење, резултат је денудације ендотела туника интима, а не губитак експресије *CD34*, што се доказује морфолошким одсуством ендотелног облога.

Однос денудације ендотела тунике интима великих сафенских вена, а према групама истраживања и присуству фиброплазије не показује статистички значајну разлику између испитиваних група.

Код пацијената укључених у студију запажен је пад просечних вредности серумског нивоа тропонина И (*TnI*), са одмицањем постоперативног тока, за све групе,

али је тај пад био мањи и постпенији у групи у којој су аутовенски графтови великих сафенских вена били интраоперативно складиштени у *Bretschneider*-овом раствору. Није утврђена разлика између серумских вредности *TnI* у односу на полну припадност и на постојање дијагностикованог дијабетеса типа 2 код пацијената испитаних група.

У постоперативном току код пацијената подвргнутих реваскуларизацији миокарда аорто-коронарним бајпасом, уз употребу сафенских венских графтова, запажен је пад просечних вредности серумског нивоа *СК*, у групама испитаника чији су узорци ткива великих сафенских вена били складиштени у хепаринизованом физиолошком раствору и раствору свеже замрзнуте плазме, док су у групама раствора хепаринизоване аутологне крви и раствора типа *Bretschneider*, серумске вредности *СК*, показале привремени пораст, а затим пад, међутим, није нађена статистички значајна разлика између група по споменутом параметру. Такође није утврђена статистички значајна разлика између серумских вредности *СК* у односу на полну припадност, као ни за постојање дијабетеса код пацијената.

Просечне серумске вредности *СКМВ* показују привремени пораст, пре свог пада, код пацијената у постоперативном току, у групама хепаринизованог физиолошког раствора и раствора хепаринизоване аутологне крви, у којима су аутовенски графтови великих сафенских вена били интраоперативно складиштени, док су у групама испитаника чији су узорци ткива складиштени у раствору свеже замрзнуте плазме и *Bretschneider*-овом раствору, серумске вредности *СКМВ* показале постепени пад. Није нађена статистички значајна разлика између група по споменутом параметру. Такође није утврђена статистички значајна разлика између серумских вредности *СКМВ* у односу на полну припадност, као ни у односу на присуство дијабетеса тип 2 код пацијената испитиваних група.

Узорци великих сафенских вена показују значајну варијабилност у свим аспектима својих морфолошких карактеристика. Ове карактеристике обухватају различите аспекте, укључујући ширину лумена, укупну дебљину зида, дебљину појединачних компоненти зида као што су интима, медија и адвентиција, квантитет и организацију глатког мишићног ткива у различитим деловима зида вене, као и дегенеративне измене у ткивним структурама зида вена, као што су фибропластичне измене у туници интима или флебосклероза остатка зида вена. Комбинација свих ових морфолошких карактеристика, како у њиховим квантитативним тако и квалитативним

аспектима, доводи до значајне разноврсности у морфологији узорака великих сафенских вена, дајући свакој од њих практично јединствену структуру.

Велике сафенске вене које се одликују хиперплазијом тунике интима са изразитом развијеношћу глаткомишићне компоненте унутрашњег уздужног мишићног подслоја, што релативно коинцидира са хиперплазијом глаткомишићних ћелија спољашњег уздужног мишићног подслоја, највероватније је део посебног хистолошког фенотипа, вена изразито мускулозног зида, који би требало да буде подвршћен у групу вена које се могу сматрати венама нормалне грађе зида.

Анализом површине пресека појединачних делова зида великих сафенских вена, запажа се да је она најмања за спољашњи лонгитудинални, а највећа за циркуларни подслој тунике медије. Овај однос се огледа и у процентуалним односима појединачних делова зида великих сафенских вена, имајући редослед вредности од најмањих код спољашњег лонгитудиналног подслоја, затим код тунике интима са унутрашњим лонгитудиналним мишићним подслојем и највећи код циркуларног подслоја тунике медије.

Дебљина туника великих сафенских вена показала је најмање вредности споменуте варијабле код спољашњег лонгитудиналног мишићног подслоја, затим тунике интима са унутрашњим лонгитудиналним подслојем и готово двоструко веће вредности за циркуларни подслој тунике медије. Упечатљива је велики распон вредности дебљина туника великих сафенских вена понаособ, са шеснаестоструком разликом између најмањих и највећих вредности за тунуку интиму, једанестоструком у вредностима за спољашњи лонгитудинални мишићни подслој и седмострука за циркуларни подслој тунике медије.

Забележена статистички значајна негативна корелација између вредности површина делова зида узорака великих сафенских вена (тунике интима, циркуларни подслој тунике медије и спољашњи уздужни глаткомишићни подслој), говори у прилог законитости организације структуре зида великих сафенских вена, при којој, крупнија конституција било које од споменутих компоненти, у укупном саставу зида вене је у комбинацији са мањом конституцијом друге две компоненте.

Литература

1. Barquera S, Pedroza-Tobías A, Medina C, Hernández-Barrera L, Bibbins-Domingo K, Lozano R, et al. Global Overview of the Epidemiology of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Arch Med Res.* 2015;46(5):328–38.
2. Cheng TO. First Selective Coronary Arteriogram. *Circulation.* 2003;107(5):E42-2.
3. Sones FM. Cine coronary arteriography. *Anesth Analg.* 1967;46(5):499–508.
4. Senning A. Strip grafting in coronary arteries. Report of a case. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1961;41:542–9.
5. Thomas JL. The Vineberg legacy: internal mammary artery implantation from inception to obsolescence. *Tex Heart Inst J.* 1999;26(2):107–13.
6. Shrager JB. The Vineberg procedure: The immediate forerunner of coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg.* 1994;57(5):1354–64.
7. Goetz Rh, Rohman M, Haller Jd, Dee R, Rosenak SS. Internal mammary-coronary artery anastomosis. A nonsuture method employing tantalum rings. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1961;41:378–86.
8. Sabiston DC. The William F. Rienhoff, Jr. lecture. The coronary circulation. *Johns Hopkins Med J.* 1974;134(6):314–29.
9. Kolessov VI. Mammary artery-coronary artery anastomosis as method of treatment for angina pectoris. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1967;54(4):535–44.
10. Green GE, Stertzer SH, Reppert EH. Coronary Arterial Bypass Grafts. *Ann Thorac Surg.* 1968;5(5):443–50.
11. Favalaro RG. Saphenous Vein Autograft Replacement of Severe Segmental Coronary Artery Occlusion. *Ann Thorac Surg.* 1968;5(4):334–9.
12. Marti MC, Bouchardy B, Cox JN. Aorto-coronary by-pass with autogenous saphenous vein grafts: Histopathological aspects. *Virchows Archiv Abteilung A Pathologische Anatomie.* 1971;352(3):255–66.
13. Cuminetti G, Gelsomino S, Curello S, Lorusso R, Maessen JG, Hoorntje JCA. Contemporary use of arterial and venous conduits in coronary artery bypass grafting: anatomical, functional and clinical aspects. *Netherlands Heart Journal.* 2017;25(1):4–13.
14. Carpentier A, Guermonprez JL, Deloche A, Frechette C, DuBost C. The Aorta-to-Coronary Radial Artery Bypass Graft. *Ann Thorac Surg.* 1973;16(2):111–21.

15. Curtis JJ, Stoney WS, Alford WC, Burrus GR, Thomas CS. Intimal Hyperplasia. *Ann Thorac Surg.* 1975;20(6):628–35.
16. Acar C, Ramsheyi A, Pagny JY, Jebara V, Barrier P, Fabiani JN, et al. The radial artery for coronary artery bypass grafting: Clinical and angiographic results at five years. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1998;116(6):981–9.
17. Attum AA. The use of the gastroepiploic artery for coronary artery bypass graft: another alternative. *Tex Heart Inst J.* 1987;14(3):289–92.
18. Suma H. The Right Gastroepiploic Artery Graft for Coronary Artery Bypass Grafting: A 30-Year Experience. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg.* 2016;49(4):225–31.
19. Kosir G, Tetickovic E. Intraoperative transcranial doppler ultrasonography monitoring of cerebral blood flow during coronary artery bypass grafting. *Acta Clin Croat.* 2011;50(1):5–11.
20. Lytle BW, Blackstone EH, Loop FD, Houghtaling PL, Arnold JH, Akhrass R, et al. Two internal thoracic artery grafts are better than one. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999;117(5):855–72.
21. Takagi H, Goto S nosuke, Watanabe T, Mizuno Y, Kawai N, Umemoto T. A meta-analysis of adjusted hazard ratios from 20 observational studies of bilateral versus single internal thoracic artery coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;148(4):1282–90.
22. Weiss AJ, Zhao S, Tian DH, Taggart DP, Yan TD. A meta-analysis comparing bilateral internal mammary artery with left internal mammary artery for coronary artery bypass grafting. *Ann Cardiothorac Surg.* 2013;2(4):390–400.
23. Lazar HL. The Arterial Revascularization Trial: It Is What It Is. *J Am Heart Assoc.* 2019;8(23):e015046.
24. Calafiore AM, Di Giammarco G, Teodori G, Bosco G, D'Annunzio E, Barsotti A, et al. Left anterior descending coronary artery grafting via left anterior small thoracotomy without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1996;61(6):1658–65.
25. Loulmet D, Carpentier A, d'Attellis N, Berrebi A, Cardon C, Ponzio O, et al. Endoscopic coronary artery bypass grafting with the aid of robotic assisted instruments. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999;118(1):4–10.
26. Melly L, Torregrossa G, Lee T, Jansens JL, Puskas JD. Fifty years of coronary artery bypass grafting. *J Thorac Dis.* 2018;10(3):1960–7.
27. Bonatti J, Rehman A, Schwartz K, Deshpande S, Kon Z, Lehr E, et al. Robotic Totally Endoscopic Triple Coronary Artery Bypass Grafting on the Arrested Heart: Report of the First Successful Clinical Case. *Heart Surg Forum.* 2010;13(6):E394–6.

28. Balkhy HH, Wann LS, Krienbring D, Arnsdorf SE. Integrating Coronary Anastomotic Connectors and Robotics Toward a Totally Endoscopic Beating Heart Approach: Review of 120 Cases. *Ann Thorac Surg.* 2011;92(3):821–7.
29. Dimitrova KR, Dincheva GR, Hoffman DM, DeCastro H, Geller CM, Tranbaugh RF. Results of Endoscopic Radial Artery Harvesting in 1577 Patients. *Innovations: Technology and Techniques in Cardiothoracic and Vascular Surgery.* 2013;8(6):398–402.
30. Shahian DM, O'Brien SM, Sheng S, Grover FL, Mayer JE, Jacobs JP, et al. Predictors of Long-Term Survival After Coronary Artery Bypass Grafting Surgery. *Circulation.* 2012;125(12):1491–500.
31. Head SJ, Milojevic M, Daemen J, Ahn JM, Boersma E, Christiansen EH, et al. Mortality after coronary artery bypass grafting versus percutaneous coronary intervention with stenting for coronary artery disease: a pooled analysis of individual patient data. *The Lancet.* 2018;391(10124):939–48.
32. Patel MR, Calhoon JH, Dehmer GJ, Grantham JA, Maddox TM, Maron DJ, et al. ACC/AATS/AHA/ASE/ASNC/SCAI/SCCT/STS 2017 Appropriate Use Criteria for Coronary Revascularization in Patients With Stable Ischemic Heart Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2017;69(17):2212–41.
33. Al-Lamee RK, Foley M, Rajkumar CA, Francis DP. Revascularization in stable coronary artery disease. *BMJ.* 2022;e067085.
34. Bhatt DL. CABG the clear choice for patients with diabetes and multivessel disease. *The Lancet.* 2018;391(10124):913–4.
35. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2020;41(3):407–77.
36. Harskamp RE, Alexander JH, Ferguson TB, Hager R, Mack MJ, Englum B, et al. Frequency and Predictors of Internal Mammary Artery Graft Failure and Subsequent Clinical Outcomes. *Circulation.* 2016;133(2):131–8.
37. Bowles CT, Hards R, Wrightson N, Lincoln P, Kore S, Marley L, et al. Algorithms to guide ambulance clinicians in the management of emergencies in patients with implanted rotary left ventricular assist devices. *Emergency Medicine Journal.* 2017;34(12):842–50.
38. Laurikka A, Vuolteenaho K, Toikkanen V, Rinne T, Leppanen T, Tarkka M, et al. Adipocytokine resistin correlates with oxidative stress and myocardial injury in patients undergoing cardiac surgery. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.* 2014;46(4):729–36.

39. Vivacqua A, Koch CG, Yousuf AM, Nowicki ER, Houghtaling PL, Blackstone EH, et al. Morbidity of Bleeding After Cardiac Surgery: Is It Blood Transfusion, Reoperation for Bleeding, or Both? *Ann Thorac Surg.* 2011;91(6):1780–90.
40. Kieser TM, Taggart DP. The use of intraoperative graft assessment in guiding graft revision. *Ann Cardiothorac Surg.* 2018(5):652–62.
41. Surgical Site Infections. In: *Encyclopedia of Public Health.* Dordrecht: Springer Netherlands; 2008. p. 1366–7.
42. Feldman HI, Appel LJ, Chertow GM, Cifelli D, Cizman B, Daugirdas J, et al. The Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *Journal of the American Society of Nephrology.* 2003;14(suppl_2):S148–53.
43. Blakiston M, Chiu W, Wong C, Morpeth S, Taylor S. Diagnostic Performance of Pleural Fluid Adenosine Deaminase for Tuberculous Pleural Effusion in a Low-Incidence Setting. *J Clin Microbiol.* 2018;56(8):e00258-18.
44. Sánchez- Quintana D, Cabrera Ja, Climent V, Farré J, Weiglein A, Ho Sy. How Close Are the Phrenic Nerves to Cardiac Structures? Implications for Cardiac Interventionalists. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2005;16(3):309–13.
45. Chen L, Bracey AW, Radovancevic R, Cooper JR, Collard CD, Vaughn WK, et al. Clopidogrel and bleeding in patients undergoing elective coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;128(3):425–31.
46. Brorsson B. CABG in chronic stable angina pectoris patients: indications and outcomes (SECOR/SBU). *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.* 1997;12(5):746–52.
47. Vineberg AM. Development of an anastomosis between the coronary vessels and a transplanted internal mammary artery. *Can Med Assoc J.* 1946;55(2):117–9.
48. Hillis LD, Smith PK, Anderson JL, Bittl JA, Bridges CR, Byrne JG, et al. 2011 ACCF/AHA Guideline for Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *Anesth Analg.* 2012;114(1):11–45.
49. Kelly R, Buth KJ, Légaré JF. Bilateral internal thoracic artery grafting is superior to other forms of multiple arterial grafting in providing survival benefit after coronary bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012;144(6):1408–15.
50. González Santos JM, López Rodríguez J, Dalmau Sorlí MJ. [Arterial grafts in coronary surgery. Treatment for everyone?]. *Rev Esp Cardiol.* 2005;58(10):1207–23.
51. Borović ML, Borović S, Perić M, Vuković P, Marinković J, Todorović V, et al. The internal thoracic artery as a transitional type of artery: a morphological and morphometric study. *Histol Histopathol.* 2010;25(5):561–76.

52. Kinoshita T, Asai T, Suzuki T, Van Phung D. Histomorphology of right versus left internal thoracic artery and risk factors for intimal hyperplasia. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2014;45(4):726–31.
53. Unlu Y, Keles P, Keles S, YeSilyurt H, Kocak H, Diyarbakirli S. An Evaluation of Histomorphometric Properties of Coronary Arteries, Saphenous Vein, and Various Arterial Conduits for Coronary Artery Bypass Grafting. *Surg Today*. 2003;33(10):725–30.
54. Barry M, Touati G, Chardon K, Laude M, Libert JP, Sevestre H. Histologic study of coronary, radial, ulnar, epigastric and internal thoracic arteries: application to coronary artery bypass grafts. *Surgical and Radiologic Anatomy*. 2007;29(4):297–302.
55. Ribeiro MFL, Kneubil MC, Aquino MS, Gomes GN, Mazzilli P, Buffolo E, et al. Diferenças histomorfométricas entre as artérias torácicas internas esquerda e direita em humanos. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*. 2008;23(1):1-6.
56. Kędziora A, Konstanty-Kalandyck J, Litwinowicz R, Mazur P, Guzik B, Bryniarski K, et al. Total arterial myocardial revascularization in octogenarians. *Advances in Interventional Cardiology*. 2020;16(3):336–9.
57. Sabik JF, Blackstone EH. Coronary Artery Bypass Graft Patency and Competitive Flow □□ Editorials published in the Journal of the American College of Cardiology reflect the views of the authors and do not necessarily represent the views of JACC or the American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51(2):126–8.
58. Gaudino M, Crea F, Cammertoni F, Mazza A, Toesca A, Massetti M. Morpho-Functional Features of the Radial Artery: Implications for Use as a Coronary Bypass Conduit. *Ann Thorac Surg*. 2014;98(5):1875–9.
59. Nasr AY. The radial artery and its variations: anatomical study and clinical implications. *Folia Morphol (Warsz)*. 2012;71(4):252–62.
60. Baikoussis NG, Papakonstantinou NA, Apostolakis E. Radial artery as graft for coronary artery bypass surgery: Advantages and disadvantages for its usage focused on structural and biological characteristics. *J Cardiol*. 2014;63(5):321–8.
61. Martínez-González B, Reyes-Hernández CG, Quiroga-Garza A, Rodríguez-Rodríguez VE, Esparza-Hernández CN, Elizondo-Omaña RE, et al. Conduits Used in Coronary Artery Bypass Grafting: A Review of Morphological Studies. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2017;23(2):55–65.
62. Chowdhury UK, Airan B, Mishra PK, Kothari SS, Subramaniam GK, Ray R, et al. Histopathology and Morphometry of Radial Artery Conduits: Basic Study and Clinical Application. *Ann Thorac Surg*. 2004;78(5):1614–21.

63. He GW, editor. *Arterial Grafting for Coronary Artery Bypass Surgery*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2006.
64. Appleson T, Hill R V. Histological comparison of the candidate arteries for bypass grafting of the posterior interventricular artery. *Anat Sci Int*. 2012;87(3):150–4.
65. Ranger GS, Lim C. Review of Atlas of Human Anatomy, 4th Edition, by Frank Netter. *International Seminars in Surgical Oncology*. 2007;4(1):28.
66. Shah DM, Chang BB, Leopold PW, Corson JD, Leather RP, Karmody AM. The anatomy of the greater saphenous venous system. *J Vasc Surg*. 1986;3(2):273–83.
67. Gibbons RJ, Chatterjee K, Daley J, Douglas JS, Fihn SD, Gardin JM, et al. ACC/AHA/ACP–ASIM Guidelines for the Management of Patients With Chronic Stable Angina: Executive Summary and Recommendations. *Circulation*. 1999;99(21):2829–48.
68. Acinapura A, Jacobowitz I, Kramer M, Adkins M, Zisbrod Z, Cunningham J. Demographic changes in coronary artery bypass surgery and its effect on mortality and morbidity. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 1990;4(4):175–81.
69. Buxton BF, Hayward PAR, Newcomb AE, Moten S, Seevanayagam S, Gordon I. Choice of conduits for coronary artery bypass grafting: craft or science? *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2009;35(4):658–70.
70. Favaloro RG, Effler DB, Groves LK, Sheldon WC, Riahi M. Direct Myocardial Revascularization with Saphenous Vein Autograft. *Dis Chest*. 1969;56(4):279–83.
71. Chesebro JH, Fuster V, Elveback LR, Clements IP, Smith HC, Holmes DR, et al. Effect of Dipyridamole and Aspirin on Late Vein-Graft Patency after Coronary Bypass Operations. *New England Journal of Medicine*. 1984;310(4):209–14.
72. El-Hamamsy I, Cartier R, Demers P, Bouchard D, Pellerin M. Long-Term Results After Systematic Off-Pump Coronary Artery Bypass Graft Surgery in 1000 Consecutive Patients. *Circulation*. 2006;114(1_supplement).
73. Campeau L, Lespérance J, Hermann J, Corbara F, Grondin CM, Bourassa MG. Loss of the improvement of angina between 1 and 7 years after aortocoronary bypass surgery: correlations with changes in vein grafts and in coronary arteries. *Circulation*. 1979;60(2):1–5.
74. Bulkley BH, Hutchins GM. Accelerated “atherosclerosis”. A morphologic study of 97 saphenous vein coronary artery bypass grafts. *Circulation*. 1977;55(1):163–9.
75. Fuster V, Dewanjee MK, Kaye MP, Josa M, Metke MP, Chesebro JH. Noninvasive radioisotopic technique for detection of platelet deposition in coronary artery bypass grafts in dogs and its reduction with platelet inhibitors. *Circulation*. 1979;60(7):1508–12.

76. Griffith LS, Bulkley BH, Hutchins GM, Brawley RK. Occlusive changes at the coronary artery--bypass graft anastomosis. Morphologic study of 95 grafts. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1977;73(5):668–79.
77. Sabik JF, Lytle BW, Blackstone EH, Houghtaling PL, Cosgrove DM. Comparison of Saphenous Vein and Internal Thoracic Artery Graft Patency by Coronary System. *Ann Thorac Surg.* 2005;79(2):544–51.
78. Cheanvechai C, Effler DB, Hooper JR, Eschenbruch EM, Sheldon WC, Sones FM, et al. The Structural Study of the Saphenous Vein. *Ann Thorac Surg.* 1975;20(6):636–45.
79. Elsharawy MA, Naim MM, Abdelmaguid EM, Al-Mulhim AA. Role of saphenous vein wall in the pathogenesis of primary varicose veins. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2006;6(2):219–24.
80. Samano N, Souza D, Dashwood MR. Saphenous veins in coronary artery bypass grafting need external support. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2021;29(5):457–67.
81. Milroy CM, Scott DJA, Beard JD, Horrocks M, Bradfield JWB. Histological appearances of the long saphenous vein. *J Pathol.* 1989;159(4):311–6.
82. Kudo FA, Muto A, Maloney SP, Pimiento JM, Bergaya S, Fitzgerald TN, et al. Venous Identity Is Lost but Arterial Identity Is Not Gained During Vein Graft Adaptation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(7):1562–71.
83. Conte MS, Bandyk DF, Clowes AW, Moneta GL, Seely L, Lorenz TJ, et al. Results of PREVENT III: A multicenter, randomized trial of edifoligide for the prevention of vein graft failure in lower extremity bypass surgery. *J Vasc Surg.* 2006;43(4):742-751.e1.
84. Swift MR, Weinstein BM. Arterial–Venous Specification During Development. *Circ Res.* 2009;104(5):576–88.
85. Lajos TZ, Robicsek F, Thubrikar M, Urschel H. Improving Patency of Coronary Conduits “Valveless” Veins and/or Arterial Grafts. *J Card Surg.* 2007;22(2):170–7.
86. Bath PM, Hassall DG, Gladwin AM, Palmer RM, Martin JF. Nitric oxide and prostacyclin. Divergence of inhibitory effects on monocyte chemotaxis and adhesion to endothelium in vitro. *Arterioscler Thromb.* 1991;11(2):254–60.
87. Knekt P, Aromaa A, Maatela J, Alfthan G, Aaran RK, Nikkari T, et al. Serum micronutrients and risk of cancers of low incidence in Finland. *Am J Epidemiol.* 1991;134(4):356–61.
88. Petrovic A, Abramovic M, Mihailovic D, Gligorijevic J, Zivkovic V, Mojsilovic M, et al. Multicolor counterstaining for immunohistochemistry – a modified Movat’s pentachrome. *Biotechnic & Histochemistry.* 2011;86(6):429–35.

89. Manetta F, Yu PJ, Mattia A, Karaptis JC, Hartman AR. Bedside Vein Mapping for Conduit Size in Coronary Artery Bypass Surgery. *JLS*. 2017;21(2):e2016.00083.
90. Oliver MG, Specian RD, Perry MA, Granger DN. Morphologic assessment of leukocyte-endothelial cell interactions in mesenteric venules subjected to ischemia and reperfusion. *Inflammation*. 1991;15(5):331–46.
91. Rubio-Gayosso I, Platts SH, Duling BR. Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2006;290(6):H2247–56.
92. Desjardins C, Duling BR. Heparinase treatment suggests a role for the endothelial cell glycocalyx in regulation of capillary hematocrit. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1990;258(3):H647–54.
93. Megens RTA, Reitsma S, Schiffers PHM, Hilgers RHP, De Mey JGR, Slaaf DW, et al. Two-Photon Microscopy of Vital Murine Elastic and Muscular Arteries. *J Vasc Res*. 2007;44(2):87–98.
94. Lipowsky Hh. Microvascular Rheology and Hemodynamics. *Microcirculation*. 2005;12(1):5–15.
95. Michel C. Starling: the formulation of his hypothesis of microvascular fluid exchange and its significance after 100 years. *Exp Physiol*. 1997;82(1):1–30.
96. Vink H, Duling BR. Capillary endothelial surface layer selectively reduces plasma solute distribution volume. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2000;278(1):H285–9.
97. Starling EH. On the Absorption of Fluids from the Connective Tissue Spaces. *J Physiol*. 1896;19(4):312–26.
98. Quinsey NS, Greedy AL, Bottomley SP, Whisstock JC, Pike RN. Antithrombin: in control of coagulation. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004;36(3):386–9.
99. Walton KW, Slaney G, Ashton F. Atherosclerosis in vascular grafts for peripheral vascular disease. *Atherosclerosis*. 1986;61(2):155–67.
100. Li Q, Bolli R, Qiu Y, Tang XL, Murphree SS, French BA. Gene Therapy With Extracellular Superoxide Dismutase Attenuates Myocardial Stunning in Conscious Rabbits. *Circulation*. 1998;98(14):1438–48.
101. Tarbell Jm, Pahakis My. Mechanotransduction and the glycocalyx. *J Intern Med*. 2006;259(4):339–50.

102. Krüger-Genge, Blocki, Franke, Jung. Vascular Endothelial Cell Biology: An Update. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18):4411.
103. Yamamoto K, Onoda K, Sawada Y, Fujinaga K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, et al. Locally applied cilostazol suppresses neointimal hyperplasia and medial thickening in a vein graft model. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2007;13(5):322–30.
104. Diacovo TG, Roth SJ, Buccola JM, Bainton DF, Springer TA. Neutrophil rolling, arrest, and transmigration across activated, surface-adherent platelets via sequential action of P-selectin and the beta 2-integrin CD11b/CD18. *Blood.* 1996;88(1):146–57.
105. Hu X, Adamson RH, Liu B, Curry FE, Weinbaum S. Starling forces that oppose filtration after tissue oncotic pressure is increased. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology.* 2000;279(4):H1724–36.
106. Bar A, Targosz- Korecka M, Suraj J, Proniewski B, Jaształ A, Marczyk B, et al. Degradation of Glycocalyx and Multiple Manifestations of Endothelial Dysfunction Coincide in the Early Phase of Endothelial Dysfunction Before Atherosclerotic Plaque Development in Apolipoprotein E/Low- Density Lipoprotein Receptor- Deficient Mice. *J Am Heart Assoc.* 2019;8(6):e011171.
107. Kato S, Inui N, Hakamata A, Suzuki Y, Enomoto N, Fujisawa T, et al. Changes in pulmonary endothelial cell properties during bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Respir Res.* 2018;19(1):127.
108. Brouns SLN, Provenzale I, van Geffen JP, van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Localized endothelial- based control of platelet aggregation and coagulation under flow: A proof- of- principle vessel- on- a- chip study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2020;18(4):931–41.
109. Morikis VA, Simon SI. Neutrophil Mechanosignaling Promotes Integrin Engagement With Endothelial Cells and Motility Within Inflamed Vessels. *Front Immunol.* 2018;9:2774.
110. Gratton JP, Bernatchez P, Sessa WC. Caveolae and Caveolins in the Cardiovascular System. *Circ Res.* 2004;94(11):1408–17.
111. Li M, Qian M, Kyler K, Xu J. Endothelial–Vascular Smooth Muscle Cells Interactions in Atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med.* 2018;5:151.
112. de Vries MR, Quax PHA. Inflammation in Vein Graft Disease. *Front Cardiovasc Med.* 2018;5.
113. Slaba I, Wang J, Kolaczowska E, McDonald B, Lee W, Kubes P. Imaging the dynamic platelet- neutrophil response in sterile liver injury and repair in mice. *Hepatology.* 2015;62(5):1593–605.

114. Dees C, Akhmetshina A, Zerr P, Reich N, Palumbo K, Horn A, et al. Platelet-derived serotonin links vascular disease and tissue fibrosis. *Journal of Experimental Medicine*. 2011;208(5):961–72.
115. Tomaiuolo M, Matzko CN, Poventud-Fuentes I, Weisel JW, Brass LF, Stalker TJ. Interrelationships between structure and function during the hemostatic response to injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019;116(6):2243–52.
116. Weiskirchen R, Weiskirchen S, Tacke F. Organ and tissue fibrosis: Molecular signals, cellular mechanisms and translational implications. *Mol Aspects Med*. 2019;65:2–15.
117. Fahim A, Crooks MG, Morice AH, Hart SP. Increased Platelet Binding to Circulating Monocytes in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Lung*. 2014;192(2):277–84.
118. Sarjeant JM, Rabinovitch M. Understanding and treating vein graft atherosclerosis. *Cardiovascular Pathology*. 2002;11(5):263–71.
119. Lawrie GM, Weilbacher DE, Henry PD. Endothelium-dependent relaxation in human saphenous vein grafts. Effects of preparation and clinicopathologic correlations. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1990;100(4):612–20.
120. Maugeri N, Rovere-Querini P, Baldini M, Baldissera E, Sabbadini MG, Bianchi ME, et al. Oxidative Stress Elicits Platelet/Leukocyte Inflammatory Interactions *via* HMGB1: A Candidate for Microvessel Injury in Systemic Sclerosis. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(7):1060–74.
121. Janiec M, Dimberg A, Lindblom RPF. Symptomatic late saphenous vein graft failure in coronary artery bypass surgery. *Interdisciplinary CardioVascular and Thoracic Surgery*. 2023;36(4);ivad052.
122. Hwang HY, Kim MA, Seo JW, Kim KB. Endothelial preservation of the minimally manipulated saphenous vein composite graft: Histologic and immunohistochemical study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2012;144(3):690–6.
123. Nowicki M, Buczkowski P, Miskowiak B, Konwerska A, Ostalska-Nowicka D, Dyszkiewicz W. Immunocytochemical Study on Endothelial Integrity of Saphenous Vein Grafts Harvested by Minimally Invasive Surgery with the Use of Vascular Mayo Stripers. A Randomized Controlled Trial. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2004;27(3):244–50.
124. Krishnamoorthy B, Critchley W, Barnard J, Waterworth P, Caress A, Fildes J, et al. Validation of the endothelial staining markers CD31 and CD34 in immunohistochemistry of the long saphenous vein. *J Cardiothorac Surg*. 2015;10(S1):A321.

125. Tebaldi M, Gallo F, Scoccia A, Durante A, Tedeschi D, Verdoliva S, et al. Clinical Outcome of FFR-Guided Revascularization Strategy of Coronary Lesions: The HALE-BOPP Study. *Rev Cardiovasc Med.* 2023;24(2):62.
126. Widimsky P, Straka Z, Stros P, Jirasek K, Dvorak J, Votava J, et al. One-Year Coronary Bypass Graft Patency. *Circulation.* 2004;110(22):3418–23.
127. Vijayan V, Smith FCT, Angelini GD, Bulbulia RA, Jeremy JY. External Supports and the Prevention of Neointima Formation in Vein Grafts. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery.* 2002;24(1):13–22.
128. Kurusz M, Christman EW, Derrick JR, Tyers GFO, Williams EH. Use of Cold Cardioplegic Solution for Vein Graft Distention and Preservation: A Light and Scanning Electron Microscopic Study. *Ann Thorac Surg.* 1981;32(1):68–74.
129. Harskamp RE, Alexander JH, Schulte PJ, Brophy CM, Mack MJ, Peterson ED, et al. Vein Graft Preservation Solutions, Patency, and Outcomes After Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *JAMA Surg.* 2014;149(8):798.
130. Gursoy M, Hokenek F, Bakuy V. Therapeutic Options Against Internal Thoracic Artery Spasm. *Ann Thorac Surg.* 2014;97(3):1121.
131. Marin ML, Veith FJ, Panetta TF, Gordon RE, Wengerter KR, Suggs WD, et al. Saphenous vein biopsy: a predictor of vein graft failure. *J Vasc Surg.* 1993;18(3):407–14; discussion 414-5.
132. Ruttmann E, Fischler N, Sakic A, Chevchik O, Alber H, Schistek R, et al. Second Internal Thoracic Artery Versus Radial Artery in Coronary Artery Bypass Grafting. *Circulation.* 2011;124(12):1321–9.
133. Chester A, Oneil G, Tadjakarimi S, Borland J, Yacoub M. Effect of peri-operative storage solution on the vascular reactivity of the human saphenous vein. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.* 1993;7(8):399–404.
134. Gundry SR, Jones M, Ishihara T, Ferrans VJ. Optimal preparation techniques for human saphenous vein grafts. *Surgery.* 1980;88(6):785–94.
135. Knapp BD, Huang KC. The Effects of Temperature on Cellular Physiology. *Annu Rev Biophys.* 2022;51(1):499–526.
136. Wise ES, Hocking KM, Eagle S, Absi T, Komalavilas P, Cheung-Flynn J, et al. Preservation solution impacts physiologic function and cellular viability of human saphenous vein graft. *Surgery.* 2015;158(2):537–46.

137. Viaro F, Carlotti Jr CG, Rodrigues AJ, Vicente WV de A, Bassetto S, Reis GS, et al. Disfunção endotelial causada pela pressão aguda de distensão em veias safenas humanas utilizadas para revascularização do miocárdio. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*. 2007;22(2).
138. Thatte HS, Biswas KS, Najjar SF, Birjiniuk V, Crittenden MD, Michel T, et al. Multi-photon microscopic evaluation of saphenous vein endothelium and its preservation with a new solution, GALA. *Ann Thorac Surg*. 2003;75(4):1145–52.
139. Wilbring M, Tugtekin SM, Zatschler B, Ebner A, Reichenspurner H, Matschke K, et al. Even short-time storage in physiological saline solution impairs endothelial vascular function of saphenous vein grafts. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2011;40(4):811-5.
140. Lowalekar SK, Treanor PR, Thatte HS. Cardioplegia at subnormothermia facilitates rapid functional resuscitation of hearts preserved in SOMAH for transplants. *J Cardiothorac Surg*. 2014;9(1):155.
141. Klingenberg R, Hansson GK. Treating inflammation in atherosclerotic cardiovascular disease: emerging therapies. *Eur Heart J*. 2009;30(23):2838–44.
142. Thavendiranathan P. Primary Prevention of Cardiovascular Diseases With Statin Therapy. *Arch Intern Med*. 2006;166(21):2307.
143. Wilbring M, Tugtekin S, Zatschler B, Ebner A, Reichenspurner H, Kappert U, et al. Preservation of Endothelial Vascular Function of Saphenous Vein Grafts after Long-Time Storage with a Recently Developed Potassium-Chloride and N-Acetylhistidine Enriched Storage Solution. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2012;61(08):656–62.
144. Unal Y, Iriz E, Yilmazer D, Kavutcu M, Alper M, Kurtipek O, et al. Effects of lidocaine on membrane stabilization in harvested vein graft storage. *Saudi Med J*. 2009;30(2):203–8.
145. Zerkowski H, Knocks M, Konerding M, Doetsch N, Roth G, Hakim K, et al. Endothelial damage of the venous graft in CABG *Influence of solutions used for storage and rinsing on endothelial function. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 1993;7(7):376–82.
146. Mulloy B, Forster MJ. Conformation and dynamics of heparin and heparan sulfate. *Glycobiology*. 2000;10(11):1147–56.
147. Dumanski A, Sopol M, Pelczar M, Szłapka M, Kustrzycki W, Zabel M. Influence of pressure on the endothelium of the saphenous vein coronary artery bypass graft. *In Vivo*. 2007;21(5):785–9.
148. Lamm P, Juchem G, Milz S, Reichart B. Continuous graft perfusion: optimizing the quality of saphenous vein grafts. *Heart Surg Forum*. 2002;5 Suppl 4:S355-61.

149. Bush HL, Jakubowski JA, Curl GR, Deykin D, Nabseth DC. The natural history of endothelial structure and function in arterialized vein grafts. *J Vasc Surg.* 1986;3(2):avs0030204.
150. Akboga M, Yayla C, Balci K, Ozeke O, Maden O, Kisacik H, et al. Relationship between Serum Albumin Level and Monocyte-to-High-Density Lipoprotein Cholesterol Ratio with Saphenous Vein Graft Disease in Coronary Bypass. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2017;65(04):315–21.
151. Santoli E, Dimattia D, Boldorini R, Mingoli A, Tosoni A, Santoli C. University of Wisconsin Solution and human saphenous vein graft preservation: preliminary anatomic report. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.* 1993;7(10):548–52.
152. Cavallari N, Abebe W, Mingoli A, Hunter WJ, Agrawal DK, Sapienza P, et al. Functional and Morphological Evaluation of Canine Veins Following Preservation in Different Storage Media. *Journal of Surgical Research.* 1997;68(2):106–15.
153. Koukis I, Siminelakis S, Argiriou M, Theakos N, Takou A, Pounis G, et al. Antegrade cardioplegia as a possible cause of acute saphenous vein endothelial damage in patients undergoing on pump coronary artery bypass surgery. *J Thorac Dis.* 2018;10(7):4302–10.
154. Weiss DR, Juchem G, Kemkes BM, Gansera B, Nees S. Extensive deendothelialization and thrombogenicity in routinely prepared vein grafts for coronary bypass operations: facts and remedy. *Int J Clin Exp Med.* 2009;2(2):95–113.
155. Winkler B, Reineke D, Heinisch PP, Schönhoff F, Huber C, Kadner A, et al. Graft preservation solutions in cardiovascular surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2016;23(2):300–9.
156. Harskamp RE, Alexander JH, Schulte PJ, Brophy CM, Mack MJ, Peterson ED, et al. Vein Graft Preservation Solutions, Patency, and Outcomes After Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *JAMA Surg.* 2014;149(8):798.
157. Layton GR, Ladak SS, Abbasciano R, McQueen LW, George SJ, Murphy GJ, et al. The Role of Preservation Solutions upon Saphenous Vein Endothelial Integrity and Function: Systematic Review and UK Practice Survey. *Cells.* 2023;12(5):815.
158. Hussaini BE, Lu XG, Wolfe JA, Thatte HS. Evaluation of endoscopic vein extraction on structural and functional viability of saphenous vein endothelium. *J Cardiothorac Surg.* 2011;6(1):82.
159. Ak E, Ak K, Midi A, Kervancıoğlu-Demirci E, Arsan S, Çetinel Ş, et al. Histopathologic evaluation of saphenous vein grafts in patients with type II diabetes mellitus undergoing coronary artery bypass grafting. *Cardiovascular Pathology.* 2021;52:107328.

160. Grohs JG, Kadletz M, Wodratzka M, Wolner E, Raberger G. Contractile Function of Human Veins After Long-Term Storage in Different Media. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1996;28(1):89–93.
161. van den Berg BM, Vink H, Spaan JAE. The Endothelial Glycocalyx Protects Against Myocardial Edema. *Circ Res.* 2003;92(6):592–4.
162. Bretschneider E, Braun M, Fischer A, Wittpoth M, Glusa E, Schrör K. Factor Xa acts as a PDGF-independent mitogen in human vascular smooth muscle cells. *Thromb Haemost.* 2000;84(3):499–505.
163. Teloh Jk, Ansorge L, Petersen M, Demircioglu E, Waack In, Brauckmann S, et al. Histidine Metabolism After Bretschneider Cardioplegia in Cardiac Surgical Patients. *Physiol Res.* 2018;209–16.
164. Botman CJ, Schonberger J, Koolen S, Penn O, Botman H, Dib N, et al. Does Stenosis Severity of Native Vessels Influence Bypass Graft Patency? A Prospective Fractional Flow Reserve–Guided Study. *Ann Thorac Surg.* 2007;83(6):2093–7.
165. Brilakis ES, Rao S V., Banerjee S, Goldman S, Shunk KA, Holmes DR, et al. Percutaneous Coronary Intervention in Native Arteries Versus Bypass Grafts in Prior Coronary Artery Bypass Grafting Patients. *JACC Cardiovasc Interv.* 2011;4(8):844–50.
166. Toth G, De Bruyne B, Casselman F, De Vroey F, Pyxaras S, Di Serafino L, et al. Fractional Flow Reserve–Guided Versus Angiography–Guided Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *Circulation.* 2013;128(13):1405–11.
167. Yazdani SK, Farb A, Nakano M, Vorpahl M, Ladich E, Finn A V., et al. Pathology of Drug-Eluting Versus Bare-Metal Stents in Saphenous Vein Bypass Graft Lesions. *JACC Cardiovasc Interv.* 2012;5(6):666–74.
168. Sasaki Y. Role of endothelial cell denudation and smooth muscle cell dedifferentiation in neointimal formation of human vein grafts after coronary artery bypass grafting: therapeutic implications. *Heart.* 2000;83(1):69–75.
169. Gao J, Liu Y, Li YM. Review of risk factors, treatment, and prevention of saphenous vein graft disease after coronary artery bypass grafting. *Journal of International Medical Research.* 2018;46(12):4907–19.
170. Spray TL, Roberts WC. Changes in saphenous veins used as aortocoronary bypass grafts. *Am Heart J.* 1977;94(4):500–16.

171. Thiene G, Miazzi P, Valsecchi M, Valente M, Bortolotti U, Casarotto D, et al. Histological survey of the saphenous vein before its use as autologous aortocoronary bypass graft. *Thorax*. 1980;35(7):519–22.
172. Bulkley BH, Hutchins GM. Accelerated “atherosclerosis”. A morphologic study of 97 saphenous vein coronary artery bypass grafts. *Circulation*. 1977;55(1):163–9.
173. Stein AA, Rosenblum I, Leather R. Intimal sclerosis in human veins. *Arch Pathol (Chic)*. 1966;81(6):548–51.
174. Unni KK, Kottke BA, Titus JL, Frye RL, Wallace RB, Brown AL. Pathologic changes in aortocoronary saphenous vein grafts. *Am J Cardiol*. 1974;34(5):526–32.
175. Urbanek T, Skop B, Wiaderkiewicz R, Wilczok T, Ziaja K, Lebda-Wyborny T, et al. Smooth Muscle Cell Apoptosis in Primary Varicose Veins. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2004;28(6):600–11.
176. Human P, Franz T, Scherman J, Moodley L, Zilla P. Dimensional analysis of human saphenous vein grafts: Implications for external mesh support. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009;137(5):1101–8.
177. Choi JY, Lee JH, Kwon OJ. Association between the saphenous vein diameter and venous reflux on computed tomography venography in patients with varicose veins. *PLoS One*. 2022;17(2):e0263513.
178. Molnár GF, Nemes A, Kékesi V, Monos E, Nádasy GL. Maintained Geometry, Elasticity and Contractility of Human Saphenous Vein Segments Stored in a Complex Tissue Culture Medium. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2010;40(1):88–93.
179. Joh JH, Park HC. The cutoff value of saphenous vein diameter to predict reflux. *J Korean Surg Soc*. 2013;85(4):169.
180. Uyanik SA, Cenkeri CH, Atli E, Oguslu U. Relationship Between Clinical Findings and Vena Saphena Magna Diameter and Insufficiency at Cruris. *Eurasian Journal of Medical Investigation*. 2020; 4(4):477482
181. Gibson K, Meissner M, Wright D. Great saphenous vein diameter does not correlate with worsening quality of life scores in patients with great saphenous vein incompetence. *J Vasc Surg*. 2012;56(6):1634–41.
182. Engelhorn CA, Engelhorn AL, Ritter C, Lima GFI de, Lopes JGP, Cabrini LG. Identificação pela ultrassonografia vascular dos diâmetros das veias safenas magnas sem refluxo em mulheres. *J Vasc Bras*. 2017;16(2):92–7.

183. Manetta F, Yu PJ, Mattia A, Karaptis JC, Hartman AR. Bedside Vein Mapping for Conduit Size in Coronary Artery Bypass Surgery. *JLS*. 2017;21(2):e2016.00083.
184. Perek B, Malinska A, Stefaniak S, Ostalska-Nowicka D, Misturski M, Zabel M, et al. Predictive Factors of Late Venous Aortocoronary Graft Failure: Ultrastructural Studies. *PLoS One*. 2013;8(8):e70628.
185. Langes K, Körfer R, Bircks W, Hort W. No effect of saphenous intimal thickness on patency of aorta-coronary bypass grafts. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1984;88(2):304–6.
186. Li FD, Sexton KW, Hocking KM, Osgood MJ, Eagle S, Cheung-Flynn J, et al. Intimal thickness associated with endothelial dysfunction in human vein grafts. *Journal of Surgical Research*. 2013;180(1):e55–62.
187. Hall AB, Brilakis ES. Saphenous vein graft failure: seeing the bigger picture. *J Thorac Dis*. 2019;11(S9):S1441–4.
188. Rahman MS, de Winter R, Nap A, Knaapen P. Advances in the Post-coronary Artery Bypass Graft Management of Occlusive Coronary Artery Disease. *Interventional Cardiology: Reviews, Research, Resources*. 2021;16:e33.
189. Xenogiannis I, Tajti P, Burke MN, Brilakis ES. Staged revascularization in patients with acute coronary syndromes due to saphenous vein graft failure and chronic total occlusion of the native vessel: A novel concept. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*. 2019;93(3):440–4.
190. James DC, Durrani T, Wixon CL, Hughes JD, Westerband A, Mills JL. Preimplant vein intimal thickness is not a predictor of bypass graft stenosis. *J Surg Res*. 2001;96(1):1–5.
191. Kouzi-Koliakos K, Kanellaki-Kyparissi M, Marinov G, Knyazhev V, Tsalie E, Batzios C, et al. Prebypass histological and ultrastructural evaluation of the long saphenous vein as a predictor of early graft failure. *Cardiovasc Pathol*. 2006;15(6):336–46.
192. Tsui JCS, Souza DSR, Filbey D, Bomfim V, Dashwood MR. Preserved endothelial integrity and nitric oxide synthase in saphenous vein grafts harvested by a ‘no-touch’ technique. *British Journal of Surgery*. 2002;88(9):1209–15.
193. Zivkovic I, Krasic S, Stankovic M, Milacic P, Milutinovic A, Zdravkovic D, et al. Influence of Three Different Surgical Techniques on Microscopic Damage of Saphenous Vein Grafts—A Randomized Study. *Medicina (B Aires)*. 2023;59(2):217.
194. Kurusz M, Christman EW, Derrick JR, Tyers GFO, Williams EH. Use of Cold Cardioplegic Solution for Vein Graft Distention and Preservation: A Light and Scanning Electron Microscopic Study. *Ann Thorac Surg*. 1981;32(1):68–74.

195. Milutinović A, Zorc-Pleskovič R. Endothelial loss during the surgical procedure in saphenous veins harvested by open and endoscopic techniques in coronary artery bypass surgery. *Bosn J Basic Med Sci.* 2020; 20(4):451-458.
196. Preethi Ramya, T (2008) *A Study on the Great Saphenous Vein including it's Surgical and Radiological implications.* Masters thesis, Madras Medical College, Chennai.

Биографија

Александар Каменов рођен је 20.08.1984. у Едмонтону, Канади. Основну школу „Вожд Карађорђе“ завршио је у Нишу 1999. године, након тога уписује Гимназију „Бора Станковић“ коју завршава 2003. године. Те исте године уписује основне студије медицине на Медицинском Факултету Универзитета у Нишу које завршава 2009 године са просечном оценом 9.41. 2011. године уписује специјализацију из Кардиохирургије на Медицинском Факултету Универзитета у Београду коју успешно завршава 2017. године. Током студентских дана као и током своје професионалне каријере учествује у великом броју стручних радова као аутор, као и коаутор.

Изјава 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

Утицај различитих врста раствора који се користе у припреми аутоvensких графтова у коронарној хирургији на структурални интегритет ендотелних ћелија графта

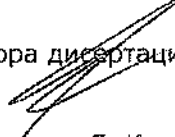
која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:


Александар Б. Каменов
(Име, средње слово и презиме)

Изјава 2.

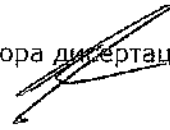
**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ЕЛЕКТРОНСКОГ И ШТАМПАНОГ ОБЛИКА ДОКТОРСКЕ
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације: Утицај различитих врста раствора који се користе у припреми аутоvensких графтова у коронарној хирургији на структурални интегритет ендотелних ћелија графта

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**, истоветан штампаном облику.

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:



Александар Б. Каменов
(Име, средње слово и презиме)

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

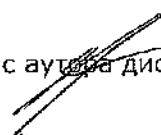
Утицај различитих врста раствора који се користе у припреми аутовенских графтова у коронарној хирургији на структурални интегритет ендотелних ћелија графта Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство **(CC BY)**
2. Ауторство – некомерцијално **(CC BY-NC)**
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде **(CC BY-NC-ND)**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима **(CC BY-NC-SA)**
5. Ауторство – без прераде **(CC BY-ND)**
6. Ауторство – делити под истим условима **(CC BY-SA)¹**

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:


Александар Б. Каменов
(Име, средње слово и презиме)

¹ Аутор дисертације обавезан је да изабере и означи (заокружи) само једну од шест понуђених лиценци; опис лиценци дат је у наставку текста