



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



IGOR S. ŽIVKOVIĆ

**UTICAJ TRI RAZLIČITE HIRURŠKE TEHNIKE NA
HISTOLOŠKE I IMUNOHISTOHEMIJSKE
KARAKTERISTIKE VENSKIH GRAFTOVA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

NIŠ, 2023.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



IGOR S. ŽIVKOVIĆ

**INFLUENCE OF THREE DIFFERENT SURGICAL
TECHNIQUES ON THE HISTOLOGICAL AND
IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF
VEIN GRAFTS**

DOCTORAL DISSERTATION

NIŠ, 2023

Mentori:

Prof. dr Dragan Milić, kardiohirurg, Klinika za kardiohirurgiju Univerzitetski klinički centar Niš, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu

Doc. dr Slobodan Mićović, kardiohirurg, Institut za kardiovaskularne bolesti „Dedinje“, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije za odbranu doktorske disertacije:**Predsednik**

Prof. dr Svetozar Putnik, kardiohirurg, Klinika za kardiohirurgiju Univerzitetski klinički centar Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Član

Prof. dr Miljan Krstić, patolog, Centar za patologiju i patološku anatomiju Univerzitetski klinički centar Niš, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu

Član

Prof. dr Miloš Velinović, kardiohirurg, Klinika za kardiohirurgiju Univerzitetski klinički centar Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Zahvalnosti

Mentoru ***doc. dr Slobodanu Mićoviću*** koji je pomogao razvoju moje naučne i hirurške karijere.

Mentoru ***prof. dr Draganu Miliću*** koji mi je još od studentskih dana usadio ljubav prema hirurgiji.

Dragom kolegi ***asistentu Petru Milačiću*** na pomoći prilikom učenja nove procedure koja je bila sastavni deo doktorske disertacije.

Koleginici ***dr Milici Stanković*** koja je uradila veliku patohistološku analizu, bez koje doktorska disertacija ne bi imala značaj. Kao i njenom mentoru ***prof. dr Miljanu Krstiću*** na odabiru prave osobe za takav zadatak.

Svim kolegama sa Instituta za kardiovaskularne bolesti Dedinje čija pomoć je značajno olakšala istraživanje.

Najveću zahvalnost dugujem ***svojoj porodici, majci Mili, ocu Slavoljubu i bratu Saši*** koji su uvek bili uz mene i davali mi najveću podršku tokom života i školovanja.

Posvećeno Heleni i Lazaru sa nadom da će biti dobri i časni ljudi.

Podaci o doktorskoj disertaciji

Mentor:	Prof. dr Dragan Milić, specijalista vaskularne i kardiohirurgije, vanredni profesor, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet Doc. dr Slobodan Mićović, kardiohirurg, docent, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet
Naslov:	Uticaj tri različite hirurške tehnike na histološke i imunohistohemijske karakteristike venskih graftova
Rezime:	<p>Cilj: Velika safenska vena predstavlja najviše korišćeni krvni sud za hiruršku revaskularizaciju. Mehanizam propadanja i okluzije venskih graftova nakon revaskularizacije i dalje je nepoznat. Smatra se da hirurška tehnika pripreme ima važnu ulogu u ranoj i kasnoj okluziji graftova.</p> <p>Metodologija: Naše istraživanje imalo je za cilj analizu uticaja tri različite tehnike na histološke i imunohistohemijske karakteristike venskih graftova. Između juna 2019. godine i decembra 2022. godine, uključeno je 83 pacijenta koji su zahtevali hiruršku revaskularizaciju miokarda. Ovi ispitanici su bili nasumično podeljeni u tri različite grupe klasična, no-touch i endoskopska u zavisnosti od tehnike korišćene za pripremu venskih graftova. Uzorci vene su slati na histološku (hematoksilin eozin bojenje) i imunohistohemijsku (CD31, Faktor VIII, Kaveolin, eNOS bojenje) analizu.</p> <p>Rezultati: Klasična, no-touch i endoskopska grupa je uključivala 27 pacijenta (srednje godine 67.66±5.6), 31 pacijenta (srednje godine 66.5±7.4) i 25 pacijenata (srednje godine 66±5.5) redom. Hematoksilin eozin bojenje je otkrilo niži stepen mikrostrukturnih oštećenja u no-touch grupi (2, IQR 1-2) u poređenju sa klasičnom i endoskopskom tehnikom (3, IQR 2-4), (4, IQR 2-4) redom (p<0.001). Imunohistohemijska analiza je otkrila viši stepen bojenja venskih uzoraka pripremanih no-touch tehnikom u poređenju sa klasičnom i endoskopskom grupom (CD31 antitelo p=0.02, Faktor VIII p<0.001, Kaveolin p=0.001, i eNOS p=0.003). Nije bilo razlike u velikim neželjenim kardijalnim i neurološkim događajima između poredbenih grupa. Komplikacije rana na mestu uzimanja venskih graftova su bile statistički manje prisutne u endoskopskoj grupi.</p> <p>Zaključak: Najbolja očuvanost mikrostrukture venskih graftova bila je u grupi vena pripremanih no-touch tehnikom, dok je najmanji procenat komplikacija mesta preparacije bio u grupi endoskopski pripremanih vena. Kombinacija dve tehnike i razvijanje endoskopski no-touch tehnike može poboljšati rezultate.</p>
Naučna oblast:	Medicina
Naučna disciplina:	Hirurgija
Ključne reči:	Aortokoronarni bypass, Histologija, Imunohistohemija, Klasična priprema vene, No-touch, Endoskopska priprema vene
UDK:	UDC 616.1-089-076:611.018(043.3)
CERIF klasifikacija:	B 530 Kardiovaskularni sistem
Tip licence Kreativne zajednice:	CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral supervisor:	Prof. dr Dragan Milić, vascular and cardiac surgeon, associate professor, University of Nišu, Faculty of medicine Assit. Prof Slobodan Micovic, cardiac surgeon, assistant professor, University of Belgrade, Faculty of medicine
Title:	Influence of three different surgical techniques on the histological and immunohistochemical characteristics of vein grafts
Abstract:	<p>Background and Objectives: The saphenous vein is one of the most common used grafts (SVG) for surgical revascularisation. The mechanism of the SVGs occlusion is still unknown. Surgical preparation techniques have an important role in the early and late graft occlusion. Our study analyzed the influence of the three different surgical techniques on the histological and immunohistochemical characteristics of the vein grafts harvested by three different techniques.</p> <p>Methods: Between Jun 2019 and December 2020, 83 patients who underwent surgical revascularization were prospectively randomly assigned into three groups according to saphenous vein graft harvesting (conventional (CVH), no-touch (NT) and endoscopic (EVH)) technique. The vein graft samples were sent on the histological (hematoxylin-eosin staining) and immunohistochemical (CD31, Factor VIII, Caveolin and eNOS) examinations.</p> <p>Results: the CVH, NT, and EVH groups included 27 patients (mean age 67.66±5.6), 31 patients (mean age 66.5±7.4) and 25 patients (mean age 66±5.5), respectively. Hematoxylin-eosin staining revealed a lower grade of microstructural vein damage in the NT group (2, IQR 1-2) in comparison with CVH and EVH (3, IQR 2-4), (4, IQR 2-4) respectively (p <0.001). Immunohistochemical examination revealed a high grade of staining in the NT group compared to the CVH and EVH group (CD 31 antibody p=0.02, FVIII, p<0.001, Caveolin, p=0.001, and eNOS, p=0.003).</p> <p>The best preservation of the structural vein integrity was in the NT group, while the lowest rate of leg wound complication was in the EVH group. Those facts increase the interest in developing and implementing the endoscopic no-touch technique.</p>
Scientific field:	Medicine
Scientific discipline:	Surgery
Kez words:	CABG, Histology, Immunohistochemistry, Conventional vein harvesting, No-touch, Endoscopic vein harvesting
UDC:	UDC 616.1-089-076:611.018(043.3)
CERIF classification:	B 530 Cardiovascular system
Creative Commons license type:	CC BY-NC-ND

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Koronarna bolest.....	1
1.2. Lečenje koronarne bolesti.....	1
1.2.1. Revaskularizacione metode.....	1
1.2.2. Indirektna hirurška revaskularizacija.....	3
1.2.3. Direktna hirurška revaskularizacija.....	4
1.3. Anatomske i histološke karakteristike velike safenske vene	6
1.3.1. Anatomske karakteristike	6
1.3.2. Histološke karakteristike	8
1.4. Hirurške tehnike preparacije i peripreme venskih graftova	11
1.4.1. Otvorena hirurška tehnika	11
1.4.2. Endoskopska hirurška tehnika	14
1.5. Prohodnost venskih graftova i faktori koji na nju utiču	15
1.5.1. Akutna tromboza grafta	15
1.5.2. Intimalna hiperplazija	16
1.5.3. Ateroskleroza	17
1.6. Faktori koji utiču na oštećenje i prohodnost graftova velike safenske vene	17
1.6.1. Preoperativni faktori	18
1.6.2. Intraoperativni faktori	19
1.6.3. Postoperativni faktori	22
1.7. Prevencija okluzije venskih graftova	24
1.7.1. Smanjenje faktora rizika	24
1.7.2. Hirurška tehnika	24

1.7.3. Farmakološka terapija	24
2. Ciljevi istraživanja	26
2.1. Primarni cilj	26
2.2. Sekundarni ciljevi	26
3. Materijal i metode.....	27
3.1 Uključujući i isključujući faktori	27
3.2. Preoperativna priprema pacijenata	27
3.3. Preparacija i priprema venskih graftova	29
3.4. Uzorkovanje i obrada patohistološkog materijala	35
3.5. Intraoperativni i rani postoperativni neželjeni događaji	41
3.6. Statistička analiza	44
4. Rezultati	45
4.1. Demografski podaci	45
4.2. Rezultati histološke analize	51
4.3. Rezultati imunohistohemijske analize	53
4.4. Rani i kasni postoperativni klinički rezultati	61
5. Diskusija	66
6. Zaključci	75
7. Literatura	76
8. Biografija autora	85

Skraćenice

ACB -aortokoronarni bypass

DKA – desna koronarna arterija

EDD – end-dijastolni dijametar

EKC – ekstrakorporalna cirkulacija

EKG – elektrokardiogram

ESD – end-sistolni dijametar

HBI – hronična bubrežna insuficijencija

HOBP – hronična obstruktivna bolest pluća

IABP – intraaortalna balon pumpa

IM – infarkt miokarda

KVB – kardiovaskularne bolesti

MR – mitralna regurgitacija

PCI – perkutana koronarna intervencija

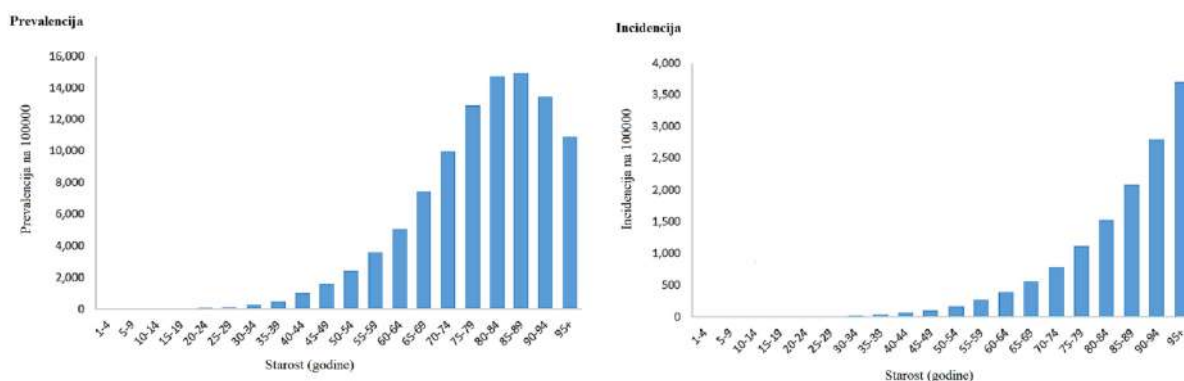
PVB – periferna vaskularna bolest

VSV – velika safenska vena

1. Uvod

1.1 Koronarna bolest

Bolest koronarnih arterija ili ishemijska bolest srca dovodi do redukcije protoka krvi usled stvaranja fibrokalifikovanih plakova (aterosklerozne promene) unutar zida i lumena epikardnih krvnih sudova srca. U slučaju povećanih potreba, a zbog nemogućnosti dopremanja dovoljne količine krvi u srčani mišić, dolazi do posledične ishemije i simptoma bolesti (1). Procenjeno je da oko 110 miliona ljudi godišnje širom sveta oboli od koronarne bolesti, od kojih 8,9 miliona umre tokom iste godine, a veliki broj ima značajne posledice koje umanjuju kvalitet života i radnu sposobnost (2). Procenat od 15,6% ukupnog broja svih uzroka smrti svrstava koronarnu bolest u najčešći uzrok mortaliteta širom sveta ali i u našoj zemlji.



Slika 1. Prevalencija i incidencija ishemijske bolesti srca u svetu (Preuzeto i prerađeno Khan M, 2022)

Upravo zato prevencija kardiovaskularnih bolesti predstavlja jedan od glavnih ciljeva savremene medicine. Preventivne mere će se značajno smanjiti broj kardiovaskularnih neželjenih događaja ili će se pak odložiti njihovo javljanje (3). Ishemijska bolest srca se može manifestovati kao stabilna angina ili akutni koronarni sindrom (nestabilna angina ili infarkt miokarda). U zavisnosti od toga načini lečenja mogu biti različiti.

1.2 Lečenje koronarne bolesti

Načini lečenja koronarne bolesti mogu biti:

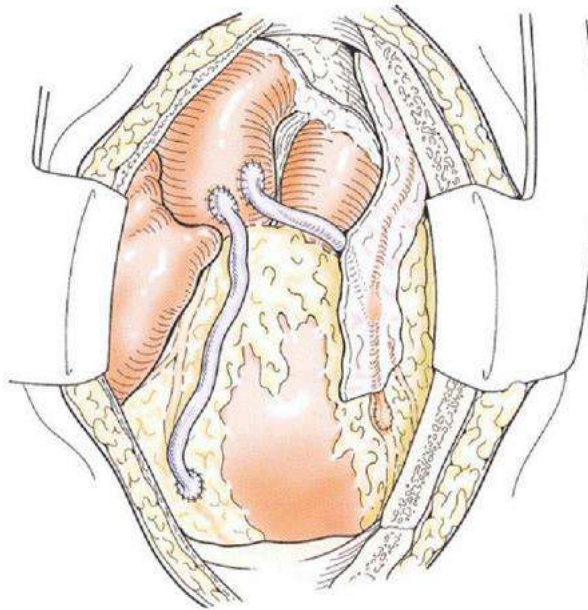
1. *Promena stila i načina života* – promena ishrane i umerena fizička aktivnost.

2. *Medikamentozna terapija* – najčešće korišćeni lekovi (lekovi za kontrolu i smanjenje lipida u krvi, antihipertenzivni lekovi, lekovi za kontrolu nivoa šećera u krvi, B blokatori, Nitroglicerina, Blokatori Ca kanala i drugi).

1.2.1 Revaskularizacione metode

3. *Transkateterske intervencije na koronarnim krvnim sudovima* – balon dilatacije i stentiranje
4. *Hirurška revaskularizacija miokarda – aortokoronarni bypass (ACB)*

Hirurška revaskularizacija miokarda predstavlja jednu od najčešće korišćenih metoda lečenja koronarne bolesti. Suština same procedure je konstruisanje novih provodnika (premošćenja, bypass-a, graftova) između aorte ili drugih velikih arterija i segmenta epikardnih koronarnih krvnih sudova iza mesta hemodinamski značajne stenozе koja redukuje lumen, u cilju dovođenja dodatne i dovoljne količine krvi u miokardno tkivo (4,5).



Slika 2. Shematski prikaz aortokoronarnog bypass-a

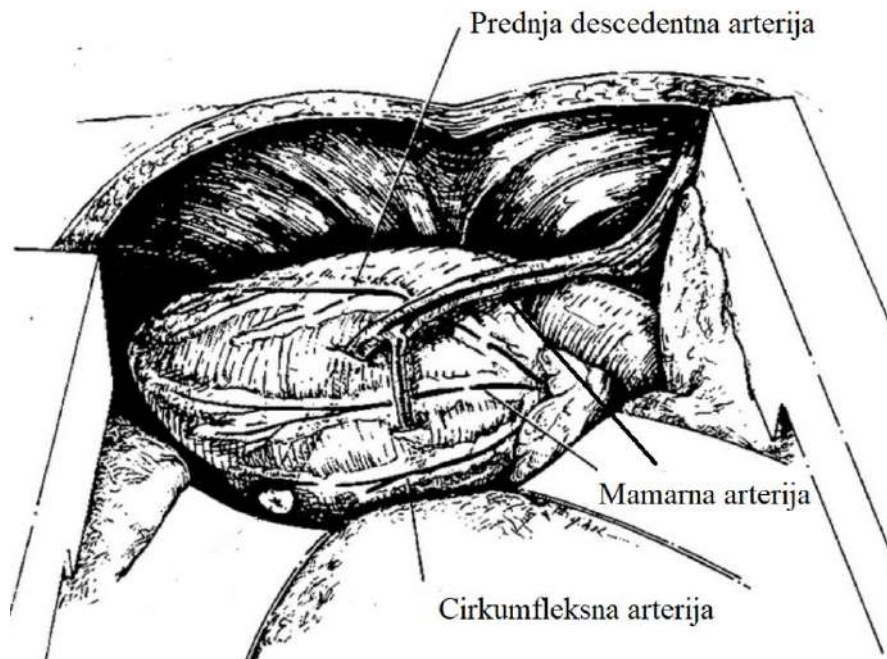
Istorijat hirurgije koronarnih krvnih sudova

Kada posmatramo istorijski, sve hirurške procedure koje su korišćene za revaskularizaciju srčanog mišića možemo podeliti na **indirektne** i **direktne**.

1.2.2 Indirektna hirurška revaskularizacija

Indirektna hirurška revaskularizacija predstavljala je početak u lečenju ishemijske bolesti srca i sa današnjeg gledišta ima samo akademski značaj. U metode indirektno revaskularizacije spadaju:

1. *Procedura usmerena ka denervaciji srčanog mišića* – presecanje cervikalnih nervnih puteva koji vode do srca. Ove procedure su bile neuspešne jer u osnovi nisu imale za cilj da poboljšaju protok kroz krvne sudove nego da maskiraju bol koja nastaje kao posledica ishemijske (uklanjanje anginoznog bola).
2. *Procedura usmerena ka kreiranju kolateralnog krvotoka* – kao što samo ime govori ove metode su imale za cilj da obezbede stvaranje kolateralnog krvotoka. Isprobavane su različite metode kao što je erodiranje talkom i azbestom u cilju stvaranja inflamacije koja će potencijalno svoriti novu mrežu krvnih sudova koja će obezbediti ishranu srčanog mišića.
3. *Procedura usmerena ka stvaranju arterio-venske fistule* – ideja retrogradnog protoka koji će obezbediti dovoljan dotok krvi u oboleli krvni sud. Ova metoda se završila neslavno.
4. *Procedura usmerena ka stvaranju komunikacije između perifernih arterija i koronarnih krvnih sudova* (1910. godina Alexis Carrel prvo aorto-koronarno premošćavanje) – prva preteča ideje aortokoronarnog bypassa koji je sproveo pomenuti hirurg a za koju je kasnije i dobio Nobelovu nagradu. On je pokušao premošćavanje descedentne aorte i glavnog stabla leve koronarne arterije. Pas koji je bio eksperimentalni model je neosredno posle same intervencije uginuo ali se ova procedura smatra prvom procedurom usmerenom na sam krvni sud.
5. *Vinbergova procedura preteča aortokoronarnog premošćenja* – podrazumevala je proceduru u kojoj se deo unutrašnje torakalne arterije uranjao u 5 cm dugačak tunel u mišiću leve komore. Ova procedura je bila prva koja je direktno obezbeđivala novi dotok oksigenirane krvi. Definitivne mane ove procedure su bile: neophodnost minimum 6 meseci da se formiraju kolateralni krvni sudovi i stenoza prednje descedentne grane mora biti 90 i više procenata. Ova metoda je pokazala dobre kliničke i angiografske rezultate, i koristila se sve dok je nije zamenila direktna revaskularizacija ACB procedura.



Slika 3. Vinbergova procedura preteča savremene hirurške revaskularizacije miokarda
(Preuzeto i prerađeno Gorlin R, 1966)

1.2.3 Direktna hirurška revaskularizacija

1. Procedura endarterektomije krvnih sudova srca

Prva endarterektomija krvnog suda i to bez primene kardiopulmonalnog *bypass*-a izvedena je 26. oktobra 1956. godine. Prva endarterektomija uz primenu mašine za vantelesni krvotok izvedena je 1960. godine. Princip procedure je vađenje aterosklerotskog plaka sa posledičnom rekonstrukcijom otvorenog krvnog suda.

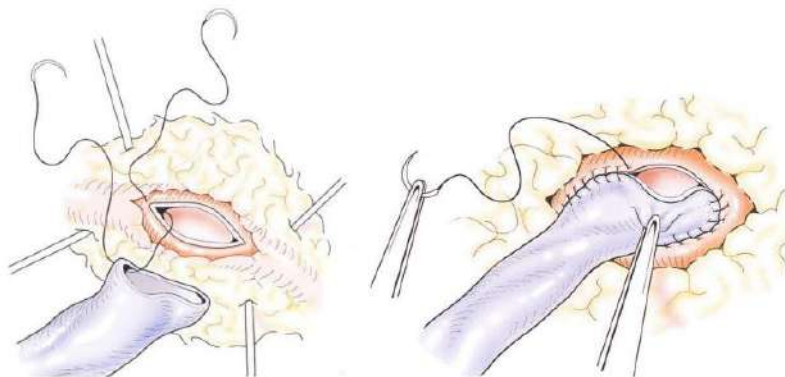
2. Procedura premošćavanja

Direktna revaskularizaciona procedura koja se danas široko primenjuje za lečenje koronarne bolesti jeste hirurško premošćavanje ili *bypass* procedura. Prvu takvu proceduru koja se kao takva i danas koristi izveo je **Robert Goetz** (Albert Einstein College of Medicine-Bronx Municipal Hospital Center in New York) 2. Maja 1960. godine kada je konstruisao anastomozu između desne koronarne arterije i desne unutrašnje torakalne arterije. Ruski hirurg **Vasilii**

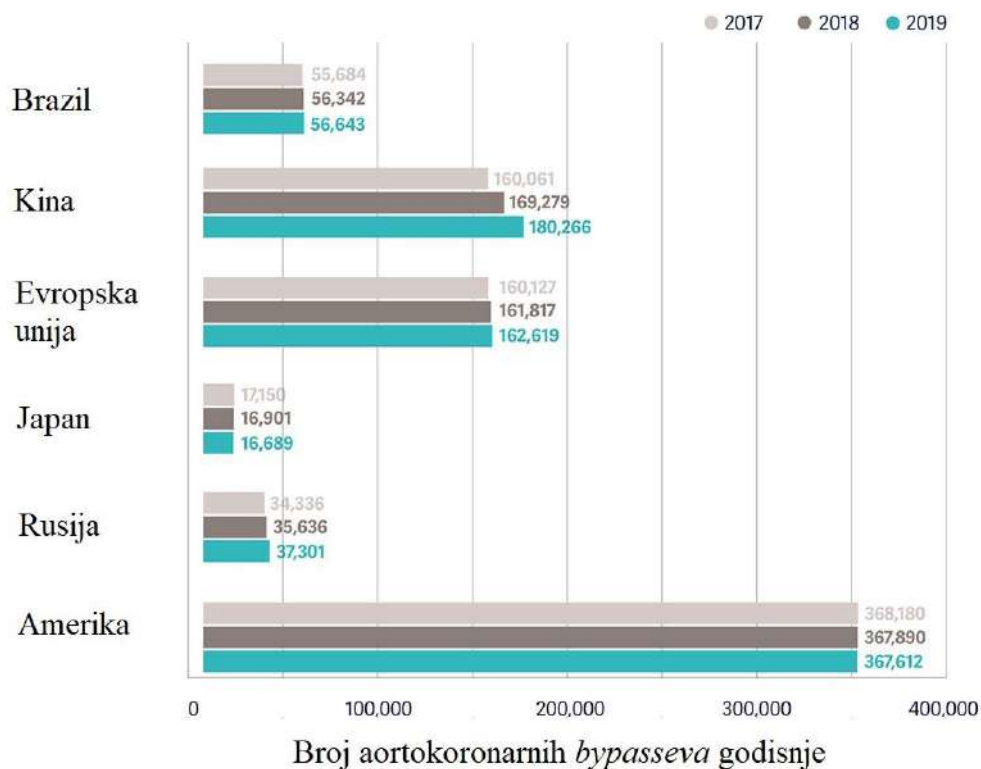
Kolessov primenjuje levu unutrašnju torakalnu arteriju za premošćavanje koronarnih stenoza bez primene mašine za vantelesni krvotok kod 5 bolesnika i rezultate objavljuje 1967. godine.

Pionir u primeni autolognog grafta velike safenske vene bio je Argentinski hirurg **Rene Favoloro** koji je Maja 1967. godine zbog komplikacije tokom endarterektomije desne koronarne arterije iskoristio autolognu veliku safensku venu (VSV) i konstruisao *bypass* između desne koronarne arterije i ascedentne aorte (6).

Danas više od 50 godina nakon prve procedure, aortokoronarni *bypass* sa izvedenih 62 operacije na 100000 stanovnika predstavlja jednu od najčešće primenjivanih hirurških procedura u svetu (7). Unutrašnja torakalna arterija predstavlja zlatni standard za hiruršku revaskularizaciju miokarda, zbog svoje dugotrajne prohodnosti koja iznosi od 85 do 95% u desetogodišnjem periodu, što u kliničkom smislu obezbeđuje veoma dobru protekciju operisanih bolesnika od neželjenih kardijalnih događaja (8,9). Ograničenje u broju arterijskih graftova i neophodnost kompletne revaskularizacije miokarda koja podrazumeva primenu više graftova, obezbeđuje da VSV i dalje predstavlja najviše korišćeni graft za hiruršku revaskularizaciju miokarda (10). Zbog svojih dobrih karakteristika VSV kao što su: relativno jednostavna hirurška preparacija, priprema i dovoljna dužina grafta za revaskularizaciju više koronarnih arterija ona i dalje ima veoma široku primenu u ACB hirurgiji (11). Nasuprot tome disfunkcija venskih graftova nakon revaskularizacije predstavlja najveći problem i glavnu limitaciju ovog krvnog suda. Studije su pokazale da je 15 – 30% graftova disfunkcionalno nakon godinu dana, preko 50% graftova nakon 10 godina od operacije. Ove brojke variraju od studije do studije ali je vrlo verovatno da je napredovanje hirurških tehnika i primena medikamentozne terapije nakon operativnog lečenja u značajnoj meri poboljšalo prohodnost venskih graftova (12).



Slika 4. Shematski prikaz distalne anastomoze aorto-koronarnog *bypassa*



Slika 5. Grafički prikaz broja hirurških procedura tokom tri godine

Razlog propadanja venskih graftova je i dalje nejasan, opšti je konsenzus da je u pitanju multifaktorijalno delovanje. Najznačajniji faktori koji dovode do okluzije graftova su: dijametar i kvalitet graftova, manipulacija i hirurška tehnika preparacije kao i šivenje anastomoze, karakteristike koronarnog korita i mesta konstrukcije distalne anastomoze (13). Činjenica da uzročnici koji utiču na prohodnost venskih graftova mogu biti nepromeljivi i promenljivi sva istraživanja su usmerena na mogućnost korigovanja promenljivih činilaca od kojih su hirurška tehnika i način pripreme graftova ključni faktori za bolju prohodnost a samim tim duže preživljavanje i bolji kvalitet života pacijenata nakon hirurške revaskularizacije. Napredovanje u hirurškoj tehnici pripreme, preparacije i konstrukcije venskog *bypass*-a omogućilo je povećanje procenta prohodnosti graftova nakon revaskularizacije miokarda (14). Manipulacija od starne hirurga koji priprema krvni sud prouzrokuje oštećenje endotelnih ćelija što uslovljava smanjenje antitrombocitne funkcije endotela uz posledično prouzrokovanje vazospazma, trombogeneze i okluzivne intimalne hiperplazije. Pored endotelnog sloja i ostali slojevi zida vene imaju takođe važnu ulogu za prohodnost i dugitrajnost venskih graftova, a mogu biti oštećeni u toku procesa pripreme VSV (15).

Naše istraživanje je proisteklo iz činjenica da odabir hirurške tehnike preparacije i pripreme venskih graftova značajno može uticati na njegovu strukturu i funkciju. Histološke i

imunohistohemijske analize umnogome mogu odrediti koja od primenjenih hirurških tehnika ima najmanje traumatsko delovanje na VSV korišćenu kao graft za ACB.

1.3 Anatomske i histološke karakteristike velike safenske vene

1.3.1 Anatomske karakteristike

Velika safenska vena (alternativno duga safenska vena) je velika potkožna, površinska vena noge. To je najduža vena u ljudskom telu, i prostire se celom dužinom donjeg ekstremiteta vraćajući krv iz stopala, potkolenice i butine do duboke femoralne vene u koju se uliva u ingvinalnoj regiji.

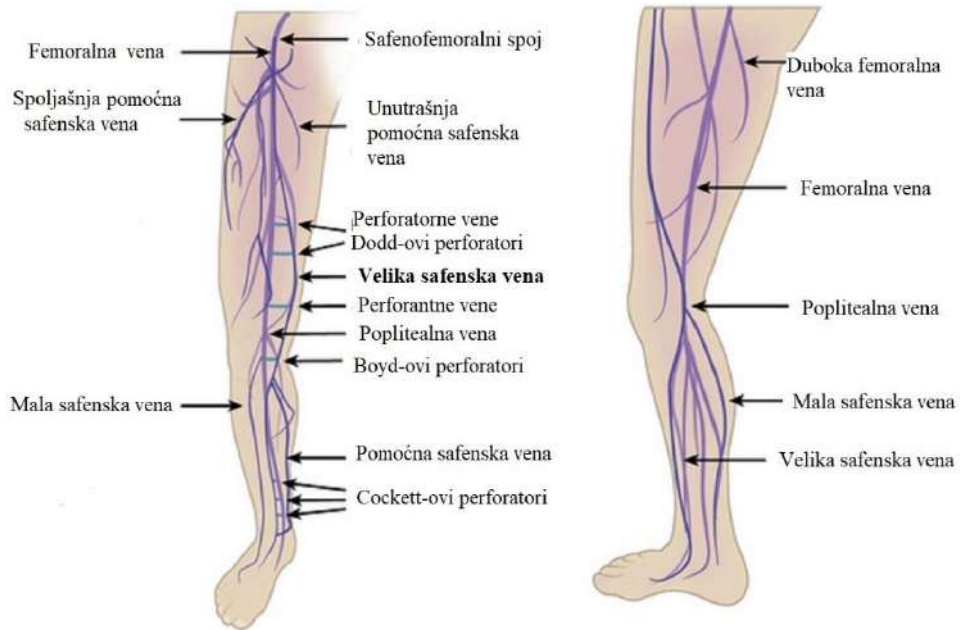
VSV nastaje na mestu spajanja dorzalnog venskog spleta i vene palca. Nakon prolaska ispred medijalnog maleolusa (mesto gde se najčešće može videti i palpirati) nastavlja dalje medijalnom stranom potkolenice. U predelu kolena prolazi oko posteriorne ivice medijalnog kondila femura, a dalje u predelu proksimalnog i prednjeg dela butine zaranja dublje kroz fasciju kribrozu i uliva se u zajedničku femoralnu venu u poziciji safeno-femoralnog spoja (16).

Pritoke velike safenske vene

Nekoliko pomoćnih vena noge se uliva u VSV u predelu butine, ali nije svaka prisutna kod svih individua zbog postojanja anatomske varijacije. Mnoge od njih se nalaze u blizini ušća zajedničke femoralne vene. Najčešće pritoke su:

- Površna cirkumfleksna ilijačna vena u 83% slučajeva
- Superficialna epigastrična vena u 78 % slučajeva
- Superficialna spoljašnja pudendalna vena 90% slučajeva
- Prednja akcesorna safenska vena 51% slučajeva (17).

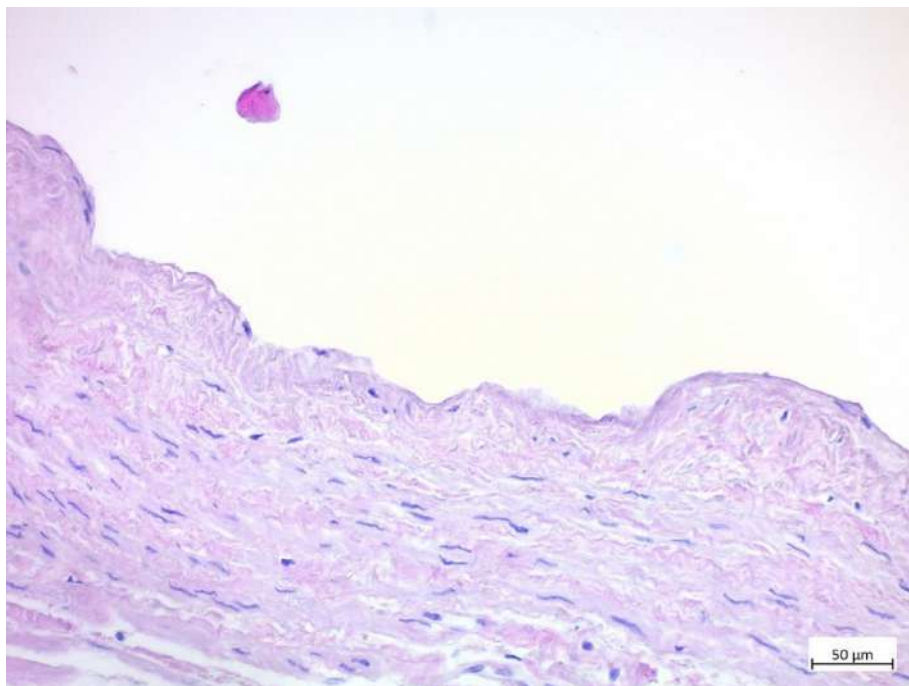
U predelu kolena velika safenska vena prima pritoke iz pedalne strane stopala preko srednje marginalne vene. Dok u predelu potkolenice velika safenska vena komunicira preko *Cockett-ovih perforatora* sa prednjim i zadnjim tibijalnim venama koje primaju mnogo kutanih venski sudova. U blizini kolena ona komunicira sa tibijalnom venom preko *Boyd-ovih perforatora*, a u predelu butine komunikacija sa femoralnom venom se ostvaruje preko *Dodd-ovih perforatora* (18).



Slika 6. Površinski i duboki venski sistem donjih ekstremiteta (Preuzeto i prerađeno Tafur A, 2012)

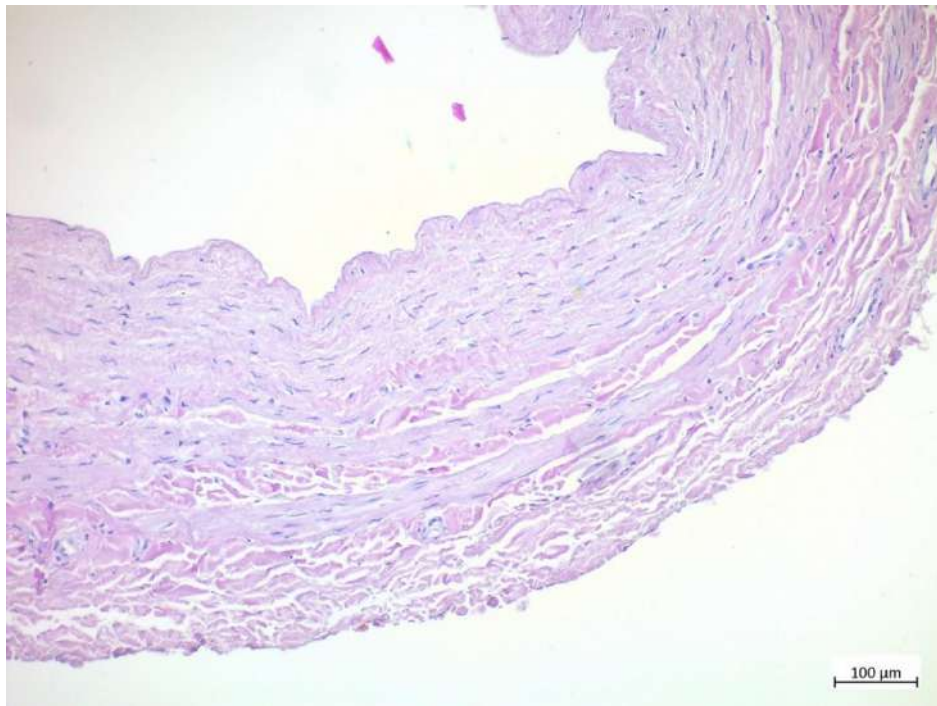
1.3.2 Histološke karakteristike

Normalna histološka građa VSV podrazumeva postojanje tankog sloja intime koja je pokrivena endotelom a od medijalnog sloja je odvojena nerazvijenom unutrašnjom elastičnom laminom koja poseduje veliki broj diskontinuiteta.



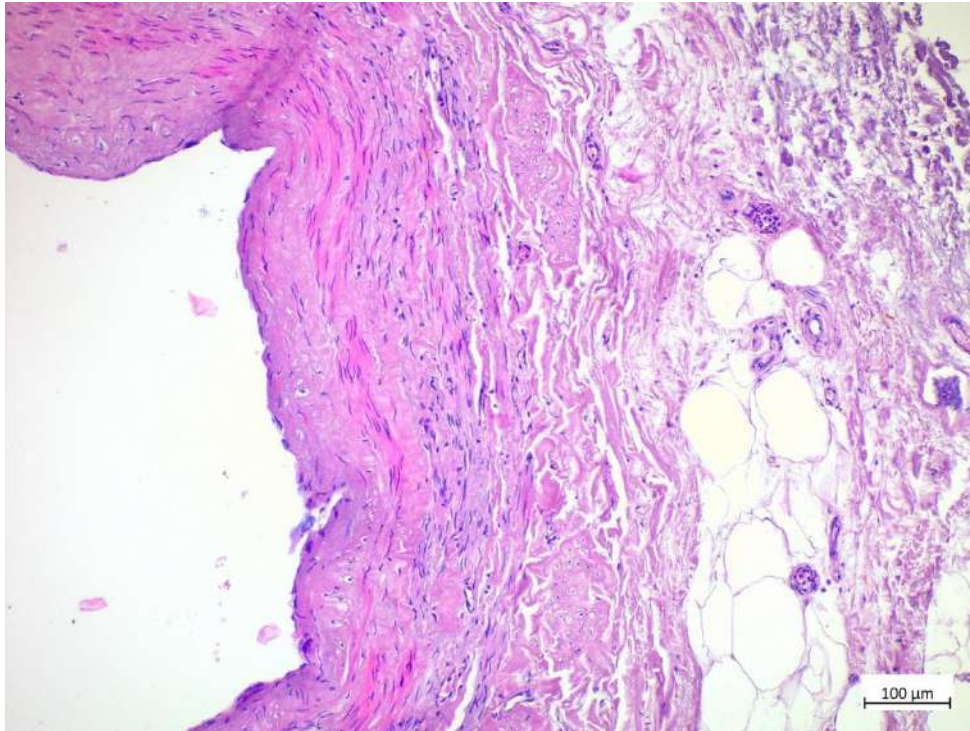
Slika 7. *Tunica intima* velike safenske vene (Hematoksilin-eozin bojenje, uveličanje x 200)

Mediju kao srednji sloj u građi venskog zida čini unutrašnja longitudinalna i spoljašnja kružna mišićna vlakna sa retko prisutnim elastičnim vlaknima. Unutrašnji longitudinalni sloj postaje zadebljan na mestu valvula.

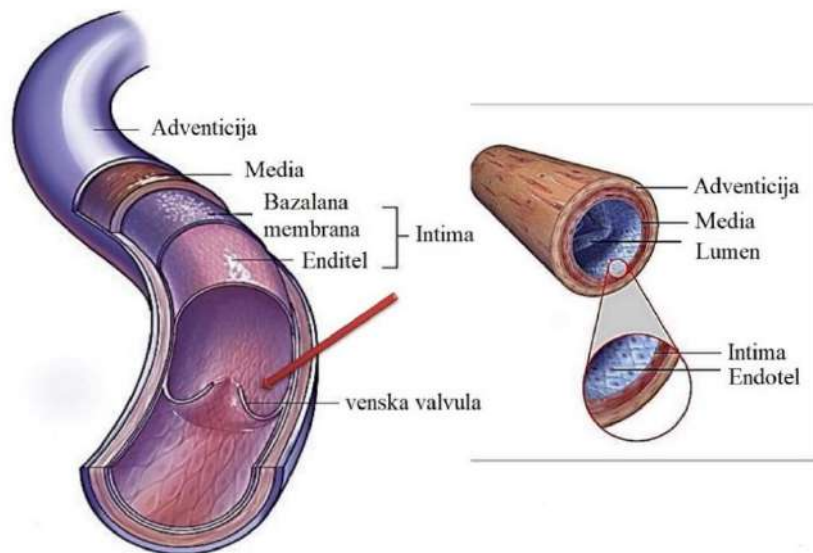


Slika 8. *Tunica media* velike safenske vene (Hematoksilin-eozin bojenje, uveličanje x 100)

Spoljašnji sloj je adventicija koja je sačinjena od kolagenih vlakana i sadrži vaza vazorum. Povremeno se mogu detektovati i longitudinalna mišićna vlakna. U poređenju sa debljinom zida arterijskih graftova venski je značajno deblji što uslovljava da je postojanje vaza vazorum veoma značajno u nutriciji zida. Zid unutrašnje torakalne arterije se ishranjuje direktno iz krvne struje, dok je za ishranu zida vene neophodno postojanje nutritivnih krvnih sudova (19).



Slika 9. *Tunica adventitia* velike safenske vene (Hematoksilin-eozin, uvećanje x 100)



Slika 10. Shematski prikaz svih slojeva zida velike safenske vene (Preuzeto i prerađeno Jose A, 2011)

1.4. Hirurške tehnike preparacije i pripreme venskih graftova

U zavisnosti od načina hirurške pripreme tj. narušavanja stepena integriteta kože, ali i odvajanja vene od okolnog tkiva hirurške tehnike možemo podeliti na:

1. Otvorena hirurška tehnika
 - a) kompletno otvorena tehnika
 - b) bridge tehnika
 - c) tehnika preparacije sa okolnim tkivom (no-touch)
2. Endoskopska tehnika

1.4.1. Otvorena hirurška tehnika

A) Kompletno otvorena tehnika

Najčešće primenjivana tehnika preparacije i pripreme venskih graftova. Podrazumeva longitudinalnu inciziju kože i potkožnog tkiva u dužini koja je neophodna za dovoljnu dužinu vene koja se koristi kao graft kao što je prikazano na slici 11.



Slika 11. Incizija kože i potkožnog tkiva u dužini grafta

Rutinski se najčešće uzima vena sa potkolenice, s obzirom da dijametar tog dela VSV često odgovara dijametru koronarnog krvnog suda koji se revaskularizuje. Vena se evidentira ispred medijalnog maleolusa (vizuelno ili ultrazvučnim pregledom), a zatim se pravi longitudinalna incizija skalpelom u dužini od 1 – 3 cm tačno iznad projekcije vene. Nakon detekcije vene incizija se produžava u zavisnosti od potrebne dužine graftova. Kada su koža i potkožno tkivo presečeni i kada je safena jasno vidljiva u svom vezivnom ležištu, finim makazama se vrši

njena preparacija. Ovim postupkom se vena polako odvaja od okolnih struktura i izdiže iz ležišta. Krvni sud treba držati vaskularnom pincetom isključivo za adventiciju tako da je graft izložen minimalnoj trakciji. Preparacija se izvodi presecanjem tkiva neposredno uz njenu makroskopski vidljivu konturu. Pažljivom preparacijom se pronalaze sve pritoke i podvezuju što je predstavljeno na slici 12. Nakon toga vena se preseca, propire i razduvava fiziološkim rastvorom ili rastvorom heparinizirane krvi. Nakon završene preparacije proverava se hemostaza a potom se potkoža i koža ušivaju šavnim materijalom po slojevima (20, 21).



Slika 12. Klasičnom metodom pripremljen graft safenske vene

B) Bridge tehnika

Ova tehnika podrazumeva pravljenje više manjih incizija kože i potkožnog tkiva neposredno iznad projekcije velike safenske vene. Deo kože između incizija ostaje intaktan. Preparacija grafta se vrši na sličan način kao i kod predhodne tehnike, s tim što zahteva veće hirurško iskustvo i bolju tehniku. Pažnja mora biti usmerena kako bi se smanjilo istežanje i manipulacija grafta s obzirom da je ograničen prostor na mestu gde je koža ostala intaktna. Prevencija povrede safenskog nerva je značajna s obzirom da se prilikom povrede javljaju postoperativne neuralgije i ispadi u senzibilitetu. Nakon preparacije bočne grane se podvezuju kao u predhodno pomenutoj tehnici, što je prikazano na slici 13. Ova tehnika se uglavnom koristi kod bolesnika koji imaju značajne faktore rizika koji mogu kompromitovati zarastanje rane. Osnovna ideja tehnike je da se očuvanjem integriteta kože pojedinih segmenata smanji tenzija na ranu i omogući nesmetano zarastanje iste (21).



Slika 13. *Bridge* tehnika pripreme velike safenske vene

C) Tehnika preparacije sa okolnim tkivom (no-touch)

Ovu tehniku je još 1996. godine implementirao kardiohirurg Domingos Souza. On je dobio ideju da venski graft priprema na sličan način kao i pediklovani graft unutrašnje torakalne i radijalne arterije. Osnovni cilj bio je prevencija i redukcija spazma tokom hirurške manipulacije graftom, ali i očuvanje okolnog tkiva koji predstavlja prirodni stent i potporu veni nakon implantacije. Tehnika podrazumeva kompletno presecanje kože u dužini potrebnog za graft, a ono što je razlikuje od klasične tehnike preparacije jeste prezervacija perivaskularnog tkiva kao što je prikazano na slici 14.



Slika 14. *No-touch* tehnika pripreme grafta velike safenske vene

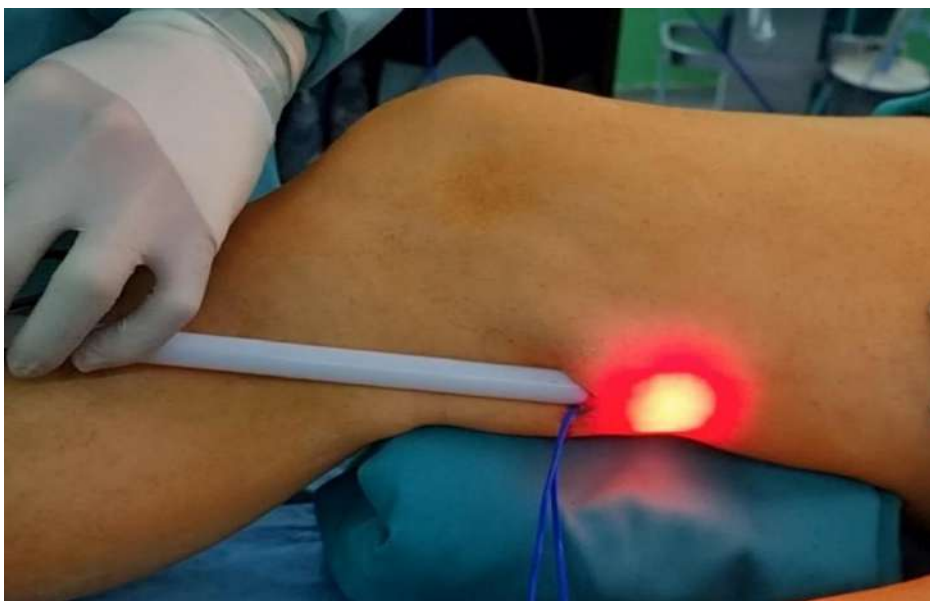
Sušтина tehnike je očuvanje fascije oko grafta što doprinosi da krvni sud ima mehaničku potporu koja je neophodna za protekciju i sprečavanje dilatacije VSV nakon implementacije u arterijski sistem. Ujedno priprema bez direktnog kontakta instrumenata sa krvnim sudom smanjuje oštećenje endotela, medije, adventicije i vaza vazorum. Ovako pripremljen graft je manje sklon spazamu, i ne zahteva dodatno razduvavanje vene. Preparacija perivaskularnog tkiva i podvezivanje i presecanje bočnih grana mogu se izvoditi makazama ili elektronožem (22).



Slika 15. Venski graft pripremljen no-touch tehnikom

1.4.2. Endoskopska tehnika

Preparacija primenom ove tehnike počinje longitudinalnom incizijom u dužini 1,5 – 2 cm sa medijalne strane potkolenice neposredno ispod kolena. Uređajem koji se zove disektor ulazi se



Slika 16. Endoskopska tehnika pripreme grafta velike safenske vene

sloj neposredno uz venu i uz pomoć insuflacije ugljen dioksida omogućava se dobra vizualizacija i precizna preparacija vene i njenih bočnih grana. Preparacija se vrši prema proksimalno i distalno u dužini koja je neophodna da se izvrši kompletna revaskularizacija. Bočne grane se presecaju bipolarnom dijatermijom. Nakon završetka preparacije male punktiformne incizije se prave proksimalno i distalno, vena se podvezuje i preseca da bi mogla da se izvuče iz tunela napolje. Dalja priprema i podvezivanje bočnih grana obavlja se na sličan način kao i kod klasične tehnike preparacija (21).

1.5. Prohodnost venskih graftova i faktori koji na nju utiču

Veliki značaj safenskog grafta za hiruršku revaskularizaciju umanjuje činjenica da se ovi krvni sudovi nakon konstruisanja *bypass*-eva mogu zapušiti u kraćem ili dužem postoperativnom periodu. Studije su pokazale da je već prve ili druge nedelje nakon operacije okludirano 10% venskih graftova, 17 – 20% posle 6-12 mesec, 15 – 30% graftova disfunkcionalno nakon godinu dana. Posle ovog perioda stopa okluzije graftova VSV napreduje tempom oko 2-4%. Pet godina nakon procedure oko 35% graftova je okludirano , a oko 50% ima značajne stenotične promene. Nakon 10 godina od procedure preko 50% venskih graftova je okludirano. Rezultati istraživanja su jako heterogeni te se ne može izvući precizni podatak o prohodnosti graftova VSV. Primena novih lekova u postoperativnom periodu je doprinela značajno smanjenju rane okluzije graftova. Činjenica je da venki graftovi pokazuju manju sklonost ka okluziji tokom vremenskog perioda, pa krvni sudovi koji su prohodni u prvih pet godina imaju veliku šansu za prohodnost i na desetogodišnjem nivou praćenja (12,22,23).

Patofiziološki mehanizmi koji menjaju normalnu arhitekturu VSV nakon hirurgije i koji direktno dovode do sužavanja ili okluzije graftova su:

- *Akutna tromboza*
- *Intimalna hiperplazija*
- *Ateroskleroza graftova*

1.5.1. Akutna tromboza grafta

Akutna tromboza je patološki mehanizam okluzije graftova koji se javlja unutar 30 dana od hirurškog zahvata. Najčešći uzrok okluzije venskih graftova u prvom postoperativnom mesecu. Akutna tromboza nastaje usled tehničkih razloga kao sto su: mali dijametar revaskularizovanog krvnog suda i prijemnog korita (mali *run-off*), nesklad između dijametra venskog grafta i koronarne arterije što rezultira turbulentnim protokom i stazom krvi, tehnički

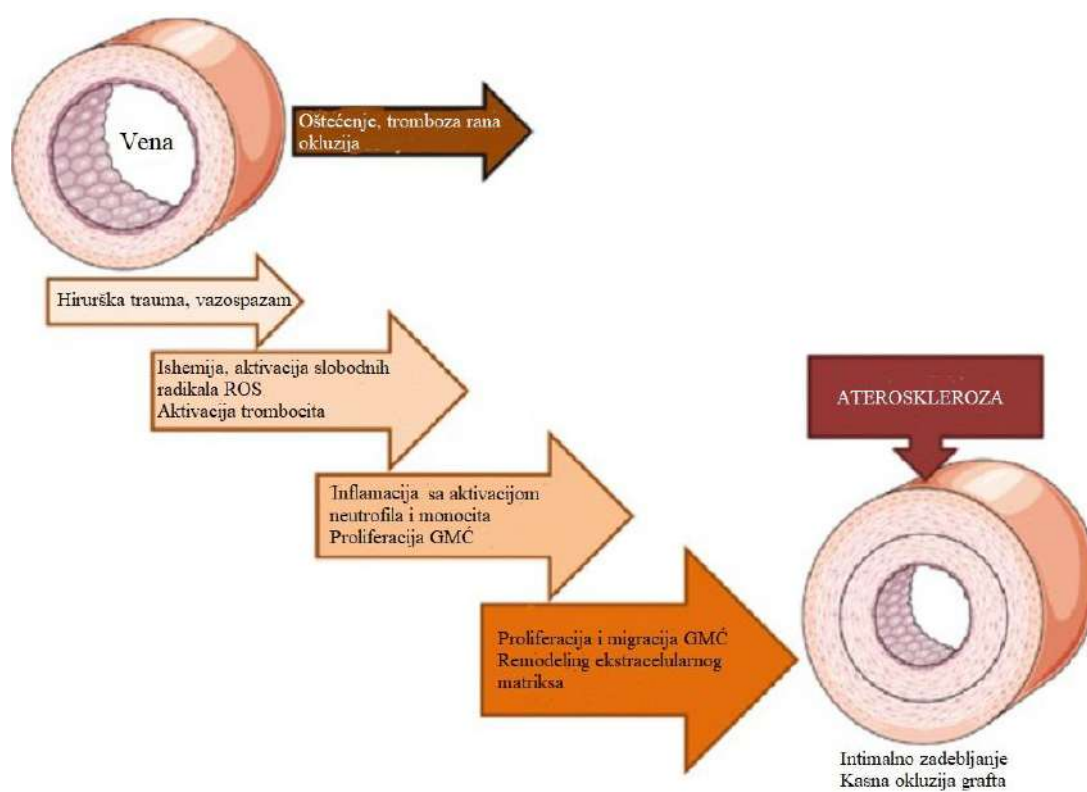
problemi tokom šivenja distalne ili proksimalne anastomoze, neadekvatna dužina koja dovodi do kinkinga ili zatezanja grafta i drugo. Ishemija grafta i oštećenje endotela kao posledica mehaničke traume i distenzije tokom pripreme takođe je faktor rizika za akutnu trombozu. Neki autori smatraju da su poslednja dva faktora i najzačajnija za propadanje graftova VSV. Uklanjanje endotela dovodi do protrombogenog efekta, s obzirom da endotelne ćelije imaju takvo naelektrisanje da odbijaju trombocite od svoje površine, pored toga endotelni faktori koji se luče imaju antikoagulacioni efekat i sprečavaju vazospazam grafta i primajućeg krvnog suda. Razduvavanje vene u toku rutinske pripreme grafta dovodi do oštećenja medije i intime, studije su pokazale da se manuelnim razduvavanjem veoma lako dosežu velike vrednosti pritiska preko 600mmHg (24).

1.5.2 Intimalna hiperplazija

Intimalna hiperplazija je skup patoloških procesa koji se odvijaju u subakutnom toku od mesec do godinu dana nakon implantacije VSV. Njega prouzrokuju hemodinamski činioci kao što su krvni pritisak ali i pulzatilni stres koji predstavlja ključnu razliku između arterijskog i venskog sistema. Pored njih nehemodinamski činioci koji nastaju prevashodno oštećenjem grafta tokom hirurške manipulacije prouzrokuju aktivaciju glatkomišićnih ćelija tunike medije dovodeći do tzv. neointimalne hiperplazije. Visok pritisak ali pre svega pulzatilni protok koji nije prisutan u venskom sistemu dovodi do stimulacije proliferacije glatkomišićnih ćelija medije i njihove migracije u intimalni sloj gde se proliferacija nastavlja. Oštećena intima i endotel ubrzavaju proces proliferacije i migracije, gde je značajno izraženija u odnosu na neoštećeni deo vene i arterije. Ishemija koja se javlja nakon uklanjanja vasa vazorum tokom pripreme VSV jedan je od vodećih uzročnika neointimalne hiperplazije (25). Oštećenje i ishemija dovode do oslobađanja protrombotskih i proinflamatornih supstanci (*CD 40, Von Willenbrandov faktor, tkivni faktor*) koji aktiviraju prokoagulantnu kaskadu koja vodi ka okluziji grafta. Istovremeno aktivirani trombociti ispoljavaju molekule na svojoj površini od kojih je značajan P-selektin. Aktivirani trombociti sekretuju supstance koje imaju parakrini efekat kao što su tkivni faktor, Von Willenbrandov faktor i CD40 ligand izazivajući lokalno zapaljenje ali i omogućavaju hemotaksiju limfocita i infiltraciju zida grafta (26).

1.5.3. Ateroskleroza graftova

Aterosklerotski plakovi se formiraju na polju intimalne hiperplazije i najčešće se sreću godinu dana nakon hirurške revaskularizacije (iako je prava ateroskleroza grafta registrovana samo 3 meseca nakon operacije). Ove promene najčešće dovode do postepenog sužavanja lumena a potom i do kompletne okluzije vene. Aterosklerotske promene vene vrlo su slične promenama u arterijskom vaskularnom sistemu, razlika je u tome što se razvijaju brže i imaju nestabilniju strukturu, što opet može usloviti rupturu, akutnu trombozu ili embolizaciju. Lee i sar. pokazali su u studiji da venske aterosklerotske lezije nestabilnije, podložnije perforaciji jer se u njima razvija veći maksimalni tenzilni stres u uslovima pulzatilnog protoka, nego u plaku arterijskog krvog suda (23,27).



Slika 17. Akutne, subakutne i hronične promene venskih graftova nakon implantacije
(Preuzeto i preređeno Wan S, 2012)

1.6 Faktori koji utiču na oštećenje i prohodnost graftova velike safenske vene

Sve činioce koji utiču na prohodnost venskih graftova možemo globalno podeliti na *nepromenljive* i *promenljive*. U zavisnosti od toga kada ti faktori utiču podelu možemo izvršiti na *preoperativne*, *intraoperativne* i *postoperativne* (28).

1.6.1. Preoperativni faktori

Ovi faktori predstavljaju grupu nepromenljivih činioca koji utiču na prohodnost venskih graftova, a drugačije se zovu i preegzistencionalni činioci.

Dilatacija lumena i pojava varikoziteta vena donjih ekstremiteta dovode do histoloških promena sa nakupljanjem ćelija zapaljenskog odgovora makrogafa/monocita i mast ćelija. Posledično ove ćelije dovode do oštećenja i daljeg remodelinga zida vena što može imati uticaj i na njihovu prohodnost nakon revaskularizacije (29). Zidovi varikoznih vena sadrže manju količinu kolagenih vlakana, i zadebljanje medijalnog sloja, ali i insuficijencijom valvularnog aparata prouzrokujući turbulentni protok kroz graft nakon implantacije na arterijski sistem u kome vladaju veći pritisci i pulzatilni protok (30). Pojedini autori, a i naša klinička iskustva ukazuju da izraženi varikoziteti donjih ekstremiteta ne dovode do značajne promene u morfologiji glavnog stabla velike safenske vene, tako da u nekim situacijama možemo iskoristiti nepromenjeni deo vene kao graft (31). Shah i sar. ispitivali su da li dijametar velike safenske vene značajno utiče na prohodnost graftova VSV ($p = 0.001$). Grupa autora je analizirala različite dijemetre koji su uticali na prohodnost graftova, od najgoreg do najboljeg ≥ 5.5 mm \rightarrow 4.5 do 5.4 mm \rightarrow 3.5 do 4.4 mm \rightarrow 2.5 do 3.4 mm \rightarrow 2 do 2.4 mm. Pored dijametra, debljina zida VSV je takođe faktor koji utiče na prohodnost ($p = 0.07$). Pri čemu je debljina svrstana u tri kategorije zadebljan zid, normalan, i istanjen. Zadebljali zid je računat ako je >1.5 mm, normalna debljina 1 do 1.5 mm, i istanjen ispod 1 mm. Zadebljali zid vene korelirao je sa lošom prohodnošću graftova (32).

Koronarni krvni sud koji se revaskularizuje pokazano je da najlošije rezultate u prohodnosti ostvaruju graftovi našiveni u sistemu desne koronarne arterije DKA, zatim optuzne marginalne arterije, posteriorne descedentne arterije, dijagonalne pa na kraju prednje descedentne arterije (32). Postoje različite teorije zašto graftovi ušiveni na sistem DKA imaju slabiju prohodnost. Jedna je tehnički aspekti pozicioniranja graftova, drugi su razlika u protoku s obzirom da kroz sistem leve arterije krv protiče isključivo u dijastoli zbog velikih pritisaka, dok u sistemu DKA krv protiče u obe faze srčanog ciklusa. Još jedan od faktora jeste taj što se za revaskularizaciju LKA češće koriste arterijski graftovi (33).

Dijametar koronarnog krvnog suda koji zahteva bypass (run-off krvnog suda) u značajnoj meri utiče na prohodnost implantiranog grafta. Razlog tome jeste to što krvni sud

većeg kalibra ima veće vaskularno korito ili “run-off” te na taj način utiče na fluidnost protoka kroz graft i distalni deo premošćenog krvnog suda. Studije su pokazale da prohodnost graftova raste sa prelaskom iz jedne u drugu kategoriju krvnih sudova: dijametar primajućeg krvnog suda od →0 do 0.9 mm, → 1.0 do 1.4 mm, → 1.5 do 1.9 mm, → 2 do 2.4 mm, → 2.5 do 3.4 mm (32).

Nesklad između dijametra venskog grafta i koronarnog krvnog suda – ovaj odnos u dijametrima takođe uslovljava prohodnost graftova. Određivanje SR odnosa koji predstavlja dijametar velike safenske vene podeljen sa dijametrom koronarnog krvnog suda, smatra se da SR ratio < od 2.8 onda je okluzija graftova učestalija (32)

1.6.2 Intraoperativni faktori

Promenljivi faktori koji se prevashodno odnose na hirušku tehniku preparacije, pripreme i šivenja graftova na koronarne krvne sude. Na ove činioce možemo ispoljiti najveći uticaj, te zapravo poboljšanjem i unapređenjem hirurške tehnike možemo povećati prohodnost graftova.

Hirurška preparacije velike safenske vene

Jedan od najvažnijih činilaca na koji možemo ostvariti najveći uticaj jeste hirurška tehnika pripreme graftova za hiruršku revaskularizaciju. Svaka preparacija i manipulacija krvnim sudom predstavlja traum. Stepem povređivanja značajno povećeva i procenat propadanja graftova nakon revaskularizacije.

Oštra ili tupa mehanička povreda dovodi do oštećenja nekad i svih slojeva zida krvnog suda. Laceracija bočnih grana ili glavnog stabla VSV zahteva prošivanje i rekonstrukciju što povećava rizik od stenose a ujedno narušava laminarni protok krvi i predstavlja locus minoris za stvaranje tromba. Hvatanje grafta pincetom ili buldog klemom dovodi do oštećenja pre svega endotela što inicira aktivaciju trombocita i dovodi do akutne okluzije graftova. Upravo iz ovih razloga krvni sud treba što manje dirati instrumentima tokom pripreme i preparacije.

U najvećem broju slučajeva preparaciju vršimo tako što inciziju radimo neposredno uz sami krvni sud, ovakav način preparacije dovodi do oštećenja adventicije koja svojim čvrstinom predstavlja potporu krvnom sudu. Gubitkom adventicijalnog sloja krvni sud postaje manje otporan naročito na pulzatilni stres i visoki krvni pritisak pritiska u arterijskom vaskularnom koritu, što će usloviti njegovo brže propadanje. Adventicija predstavlja i sedište nutritivnih sudova – vasa vasorum, a ima i značajnu enzimsku aktivnost u stvaranju endogenih

vazodilatatora. Hirurška zaštita adventicijalnog sloja ima značajnu ulogu i mora biti imperativ prilikom svake pripreme grafta VSV.

Podvezivanje presečenih bočnih grana takođe je veoma značajna hirurška radnje. Ono mora biti izvedeno tako da čvor ligature padne blizu baze grane. Na ovaj način se prevenira stvaranje malih bazena u slučaju vezivanja ligature distalnije od baze, ili pak stenozе vene u slučaju vezivane ligature previše blizu graftu (34).

Distenzija venskog grafta

Hirurški postupak kojim se tečnost (fiziološki rastvor, heparizirana krv, ili neka druga kombinacija solucija) ubruzgava iz sprica preko metalne kanile direktno u limen vene. Ova manipulacija se izvodi iz više razloga: da bi se prevazišao spazam krvnog suda koji je nastao tokom preparacije, da bi se proverio kvalitet grafta i podvezale sve bočne grane, zbog pravilne orijentacije i pozicioniranja grafta nakon konstruisanja distalne anastomoze.

Mauelna distenzija vene predstavlja jednu od manipulacija koja značajno dovodi do oštećenja gotovo svih slojeva krvnog suda, sa posebnim osvrtom na endotel i mediju. Istraživanja ukazuju da intraluminalni pritisak tokom distendiranja vrlo lako dosegne vrednosti od 600 mmHg a u slučajevima nekontrolisanog pritiska na klip šrica i preko 850 mmHg (35). Neverovatna je činjenica da pritisak od svega 50 mmHg dovodi do gubitka 26% endotela vene, dok pritisak oko 100 mmHg od 47 do 54%, pritiska od 200 mmHg dovodi do gubitka 65% ćelija, a pritiska od 500 mmHg koji nije teško dostići prouzrokuje oštećene i gubidak od čak 85 – 92 % endotelnih ćelija (36). Prekomerna distenzija vene redukuje endotelom zavisnu i endotelom nezavisnu relaksaciju grafta što dalje ukazuje da je pored oštećenja endotelnog sloja oštećen i glatkomišićni sloj medije (35). Pored toga što visoki pritisak dovodi do gubitka endotelnih ćelija, on stimuliše i progenitorske ćelije i dovodi do neoitimalne proliferacije. Vrednost pritiska, njegov nagli porast i dužina trajanja pritiska direktno korelira sa stepenom neoitimalnog zadebljanja. Tako pritisak od 100 mmHg dovodi do skoro duplog zadebljanja intime u odnosu na bazične vrednosti, a pritiska od 300 mmHg čak do 400% povećava neointimalnu proliferaciju (36).

Gubitak kontinuiteta endotela omogućava kontakte medije, trombocita i faktora rasta (faktor rasta fibroblasta FGF-2, faktori rasta trombocita PDGF A i B, vaskularni endotelni faktor rasta, i druge) koji cirkulišu unutar krvne struje. Glatkomišićne ćelije zatim diferenciraju i povećavaju aktivnost metaloproteinaza i ekspresiju citoskeletnih proteina, koji omogućavaju

glatkomišićnu migraciju i proliferaciju. Ushodna regulacija adhezionih molekula povećava nakupljanje neutrofila. Sekrecija mitogena od strane inflamatornih ćelija proširuje oštećenje venskog zida i na medijalni sloj (35).

Sekretorna funkcija endotela ogleda se produkciji veoma važnih supstanci kao što su azot-monoksid (NO) i prostaciklini. Azot-monoksid (NO) je veoma potentan vazodilatator koji se sintetise u endotelu uz pomoć aozot-oksida sintaze. Najvažnija uloga ove supstance je održavanje adekvatnog vaskularnog tonusa. Ostale značajne uloge koje obezbeđuju dužu prohodnost graftova su inhibicija agregacije trombocita i formiranje koaguluma, smanjenje leukocitne infiltracije i migracije glatkomišićnih ćelija. Hirurška manipulacija i distenzija vene dovodi do oštećenja endotela a samim tim i smanjenja produkcije NO. Iako endotel može da se obnovi tokom vremena, njegova funkcija u produkciji NO ostaje zauvek smanjena ili potpuno inhibirana. Slično kao NO i prostaciklin predstavlja jako potentnu vazodilatatornu supstancu, ali i sa sličnim delovanjem na agregaciju trombocita i formiranje koaguluma. Jednom oštećeni endotel iako ima sposobnost regeneracije ostaje trajno insuficijentan u svojoj sekretornoj funkciji što smanjuje prohodnost graftova VSV (37).

Prezervacija i čuvanje graftova do implantacije

Nakon preparacije i pripreme velika safenska vena se odlaze u rastvor sve do momenta konstrukcije *bypass*-a. Sve tečnosti koje koristimo za odlaganje graftova možemo podeliti na kristaloidne, koloidne i heparinizovanu krv.

1.1 *Fiziološki rastvor (0,9%)* predstavlja najčešće korišćenu tečnost za pripremu venskih graftova. Ovaj rastvor sadrži 154 mmol/L natrijuma, kiselosti 5.0 PH, i blago je hipertoničan sa oko 308 mOsm/L. Primena ovog sredstva smanjuje vazoreaktivnost grafta, ujedno smanjuje endotelom posredovanu vazodilatatornu funkciju.

1.2 *Autologna heparizirana krv* kada se koristi kao prezervaciono sredstvo pokazuje minimalno oštećenje endotela. U kontrolisanoj humanoj studiji koja je poredila topli fiziološki rastvor i toplu autolognu heparinizovanu krv, pokazano je da je endotel vene prezerviran u fiziološkom rastvoru bio mnogo lošiji u poređenju sa venom čuvanoj u krvnom rastvoru. Međutim fiziološki rastvor niže temperature (4C⁰) pokazao je dobru prezervaciju endotelnih ćelija (38).

1.3 *Puferisani rastvori* obezbeđuju fiziološku kiselost sredine za čuvanje velike safenske vene. U sastav ovog rastvora ulaze nutrienti i antioksidansi koji imaju bolji balans jona.

Upravo ovaj sastav obezbeđuje bolju očuvanost endotelnog integriteta i funkcije u poređenju sa čuvanjem vene u fiziološkom rastvoru ili heparinizaraj krvi.

U ovu grupu rastvora spadaju: *University of Wisconsin preservation solution*, *Histidin-tryptophan-ketoglutarate solution*, *TiProtec*, *He solution*, *Glutathione – ascorbic L-arginin (GALA)* (39).

1.6.3. Postoperativni faktori

Ovi činioci utiču na prohodnost venskih graftova nakon implantacije istih na arterijski sistem. Oni su nepromenjivi i obično dovode do intermedijarnog i kasnog propadanja venskih graftova. S obzirom da je pritisak u venama donjih ekstremiteta visok tokom posturalnog stava sa vrednostima od 90 mmHg, prebacivanjem vene na arterijski sistem u kome su pritisci veći jeste faktor koji vodi oštećenju ali nije krucijalan. Smatra se da pulzatilni protok arterijskog sistema predstavlja glavni faktor okidač intimalne hiperplazije a zatim i ateroskleroze. Ovakav proces se naziva „arterijalizacija“ venskog grafta.

Adaptacija vene na arterijsku sredinu koja uključuje drugačije hemodinamičke uslove, a koji povećavaju oksidativni stres se karakterišu dilatacijom lumena, zadebljanjem zida vene. Ove promene nastaju kao posledica migracije i proliferacije ćelija, kao i ekstracelularnog matriksa što se naziva remodeling vene. Venski graftovi izloženi umerenom protoku, i stresu na zid usled visokog arterijskog pritiska se adaptiraju zadebljanjem zida pre nego dilatacijom. Dilatacija je maksimalno izražena u prvih nekoliko meseci nakon implantacije oko 20 do 30%, sa minimalnom dilatacijom nakon tog perioda. Zadebljanje zida krvnog suda predstavlja adaptaciju na povišeni krvni pritisak i pulzatilni stres. Ekspanzija svih slojeva krvnog suda nastaje kao posledica nakupljanja ekstracelularnog matriksa, proliferacije i migracije ćelija glatkomišićnih ćelija (40).

Endotelni signali

Endotel vene oslobađa mitogene i hemotaksične supstance, regulatore ekstracelularnog remodelinga, i vazoaktivne signale koji regulišu dilataciju i dopuštaju adaptaciju krvnog suda na protok krvi, pulzatilni stres, i pritisak koji vlada u arterijskom sistemu. Oštećenje endotela u toku pripreme graftova prekida ove signale i narušava ili potpuno sprečava adaptaciju. Denudacija endotela uzrokovana protokom krvi u ranom postoperativnom periodu izaziva inhibiciju endotelne azot-oksida sintaze i smanjenje produkcije azot monoksida rezultira ekspresijom hematotaksičnih proteina (MCP-1) i Interleukina (IL-8) koji dovode do

neointimalnog zadebljanja, proliferacije i infiltracije makrofaga. Endotelin -1 (ET-1) je inflamatorni mediator vazokonstrukcije i endotelne proliferacije. Ushodna regulacija ET-1 primećena je u zidu vene unutar polja neointimalne hiperplazije. Antagonisti ET-1 receptora pokazali su smanjenje proliferacije ćelija, pored toga redukovali su zadebljanje intime i medije vene i povećali dilataciju lumena (41).

Imflamatorne ćelije kao što su makrofagi i granulociti se masovno regrutuju nakon implantacije vene u arterijski sistem. Ovo obično dovodi do ekspresije proimflamatornih medijatora, što vodi u remodeling i intimalnu hiperplaziju. Pored toga pojačani oksidativni stres i sekrecija slobodnih radikala (ROS) dodatno pojačava remodeling graftova nakon hirurške revaskularizacije miokarda. Uspešna adaptacija vene je krucijalna za njenu dugoročni prohodnost, nasuprot toga nemogućnost prilagođavanja vodi njihovoj okluziji. Iako je puno toga poznato o venskoj adaptaciji arteriskom sistemu to znanje nije prevedeno u adekvatnu terapiju koja poboljšava prohodnost istih (42).

Ateroskleroza venskih graftova

Ovaj proces predstavlja samo nastavak intimalne hiperplazije venskih graftova i odgovoran je za kasno propadanje graftova. Obično je to period nakon jedne godine od miokardne revaskularizacije. Ateroskleroza je mnogo progresivnija u graftovima safenske vene u odnosu na native koronarne krvne sudove. Kada se upoređuju sa aterosklerotskim plakovima koronarnih arterija, ove promene u venskim graftovima su mnogo više prožete inflamatornim ćelijama ali i transformisanim penastim ćelijama. Kao i kod native ateroskleroze plakovi u venskim graftovima mogu biti naglo oštećeni sto prouzrokuje akutnu trombozu sa posledničnim neželjenim efektima. Razlika je u tome što su aterosklerotske promene vena difuzne, koncentrične, sa veoma fragilnim fibroznim kapama koje su sklonije ka rupturama i trombotičnim i embolijskim komplikacijama. Upravo zbog takvih karakteristika veoma je komplikovano izvoditi perkutane intervencije i plasiranje stentova u graftovima VSV. Postvalja se pitanje da li u slučaju reoperacija stare venske graftove treba zameniti novim ili ostaviti, neki autori tvrde da prisustvo tako izmenjenih graftova povećava rizik od embolijskih komplikacija (43).

1.7. Prevencija okluzije venskih graftova

Dobro je poznato da je okluzija venskih graftova multifaktorijalna. Upravo je ovo i glavna prepreka za adekvatnu prevenciju okluzije. Ono što možemo učiniti u cilju smanjenja procenta propadanja graftova možemo podeliti u nekoliko kategorije:

1.7.1. Smanjenje faktora rizika

Faktori rizika za pojavu ateroskleroze ostaju i nakon revaskularizacije miokarda, neki od njih imaju direktno negativno dejstvo na prohodnost graftova.

- *Pušenje*: studije su pokazale uticaj na kratkoročne i dugoročne rezultate prohodnosti graftova, ali i na smanjenje preživljavanja nakon aortokoronarnog bypassa.
- *Dislipidemija*: evidentno je da hiperlipidemija predstavlja jedan od glavnih rizika za razvoj ateroskleroze i okluzije venskih graftova. Visoke vrednosti triglicerida u krvi imaju značajnu ulogu za kasnu okluziju graftova.
- *Visok krvni pritisak*: pospešuje aterosklozu i povećava stres na implantirane vene u arterijski krvni sistem.
- *Dijabetes melitus*: postoje podeljenja mišljenja o uticaju šećerne bolesti na propadanje graftova nakon revaskularizacije. Neki autori smatraju da visoke vrednosti šećera u krvi narušava vazodilatatorne mehanizme što dovodi do propadanja istih.

1.7.2. Hirurška tehnika

Evidentno je da je hirurška tehnika jedan od najznačajnijih činilaca posebno rane okluzije graftova. Ovaj činilac je promenljive prirode i na njega možemo ispoljiti najveći uticaj. Poboljšanje hirurške tehnike pripreme i prezervacijegraftova, šivenje anastomoza i određivanje dužine VSV u značajnoj meri mogu produžiti prohodnost implantiranih graftova. Upravo je ovaj aspekt i navise proučavan u našim istraživanju.

1.7.3. Farmakološka terapija

- *Aspirin*: najnovija istraživanja pokazuju da je prohodnost graftova bila duža u grupi pacijenata kod kojih je primenjivan aspirin u odnosu na placebo grupu. Upravo zbog toga se preporučuje rana administracija leka nakon operacije. Jedna stvar koja smanjuje uticaj aspirina jeste jedna činjenica da jedna grupa ljudi ne reaguju na primenu leka. Trenutne preporuke su da kod pacijenata aspirin treba startovati 6 sati nakon procedure ukoliko hirurško krvarenje to dozvoljava.

- *Dvojna antiagregaciona terapija:* preporuke za hiruršku revaskularizaciju miokarda predlažu primenu dvojne antitrombocitne terapije nakon aortokoronarnog *bypass*-a.
- *Statini:* Hiperlipidemija kao jedan od glavnih uzroka propadana graftova zahteva i adekvatnu kontrolu i lečenje. Statini su grupa lekova koja reguliše lipidni status, ali i poboljšava prohodnost graftova. Američka asocijacija za srce preporučuje primenu statina nakon operacije (44).

2. Ciljevi istraživanja

Istraživanje uključuje jedan primarni cilj i više sekundarnih ciljeva.

2.1. Primarni cilj

- Ispitivanje histoloških i imunohistohemijskih osobina venskih graftova korišćenih za revaskularizaciju miokarda koji su pripremanih pomoću tri različite hirurške tehnike (klasična, bez dodira – no-touch, endoskopska tehnika).

2.2. Sekundarni ciljevi

- Praćenje ranog postoperativnog oporavka pacijenata sa posebnim osvrtom na pojavu velikih neželjenih događaja (perioperativni infarkt miokarda, zahtev za ponovnom revaskularizacijom ili rekoronarografijom, cerebrovaskularni događaji, smrtnog ishoda).

- Praćenje brzine zarastanja i oporavka mesta preparacije graftova, kao i pojava neželjenih događaja kao što su infekcije rane, ispadi u senzibilitetu, bolne senzacije donjih ekstremiteta, otok i limforeja.

- Klinički pregled i praćenje pacijenata unutar godinu dana od operativnog zahvata u cilju evidentiranja velikih neželjenih događaja (anginozne tegobe, infarkt miokarda, ponovne revaskularizacije miokarda, cerebrovaskularni događaji, smrtni ishod), kao i problema zarastanja rana, infekcije rana, poremećaji senzibiliteta i bolne senzacije na mestu preparacije venskih graftova.

3. Materijal i metode

Prospektivna randomizovana studija izvedena na Klinici za kardiohirurgiju Instituta za kardiovaskularne bolesti Dedinje i Centra za patologiju Univerzitetskog kliničkog centra Niš u periodu od Juna 2019. godine do Decembra 2020. godine. Odobrenje od strane Etičkog komiteta Instituta za kardiovaskularne bolesti Dedinje i Medicinskog fakulteta u Nišu izdato Februara 2019.

3.1. Uključujući i isključujući faktori

Faktori za uključivanje bolesnika u studiju bili su:

- Indikovana hirurška revaskularizacija miokarda zbog višesudovne koronarne bolesti
- Zadovoljavajući anatomske kriterijumi velike safenske vene (dijametar lumena > od 2mm, a < od 5mm)
- Preparacija venskih graftova od strane jednog hirurga

Faktori koji izključuju bolesnike iz studije:

- Kombinovana hirurgija srčanih valvula i miokardne revaskularizacije
- Bolesnici hitno operisani zbog nemogućnosti perkutanog lečenja koji su hemodinamski nestabilni
- Bolesnici koji su planirani za revaskularizaciju miokarda primenom radijalne arterije kao drugog grafta za revaskularizaciju
- Bolesnici sa značajnom ishemijskom bolešću donjih ekstremiteta
- Varikozno izmenjena ili značajno povređena vena tokom preparacije.

Bolesnici koji su ispunjavali uslove za uključivanje u istraživanje prostom randomizacijom su razvrstavani u tri grupe. **Prvu grupu** čine bolesnici kod kojih je velika safenska vena pripremljena klasičnom tehnikom. **Druga grupa** uključuje bolesnike kod kojih je vena pripremljena tehnikom bez dodira „no-touch“, i **treća grupa** koja uključuje ispitanike kod kojih je vena pripremana endoskopskom tehnikom preparacije.

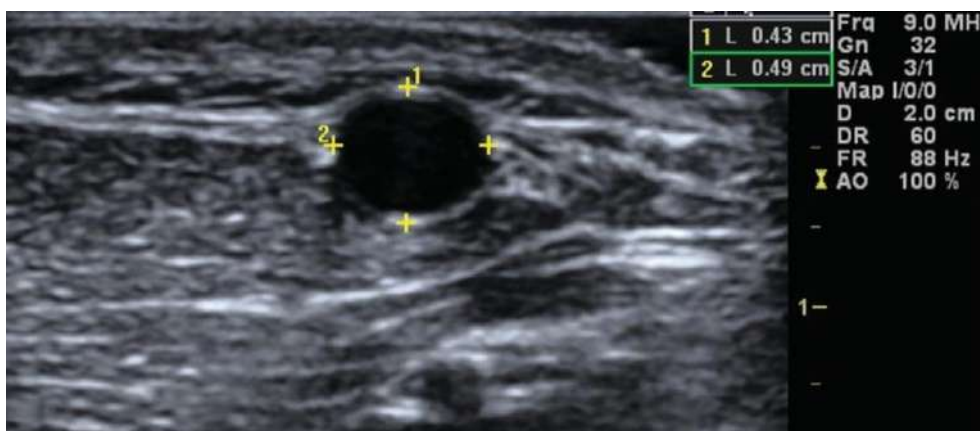
3.2. Preoperativna priprema pacijenata

Svim pacijentima primljenim za hiruršku revaskularizaciju miokarda na osnovu indikacija postavljenih angiografskim pregledom koronarnih krvnih sudova od strane tima za srce, svaki od ispitanika je imao transtorakalni ultrazvučni pregled koji je isključivao postojanje značajne

valvularne bolesti, preoperativno je svakom ispitaniku urađen ultrazvučni pregled velike safenske vene takozvani „mapping vene“.

Mapiranje velike safenske vene

Mapiranje velike safenske vene se prema institucionalnom protokolu izvodi na odeljenju preoperativne pripreme, dan pre operativnog zahvata. Bolesnik je u ležećem položaju na leđima, a obe noge su potpuno otkrivene do prepona. Pozicija operacionog stola se podešava u obrnuti trendelenburgov položaj (noge se spuštaju dole) i na taj način se vene donjih ekstremiteta ispunjavaju krvlju. Da bi se obezbedio optimalni položaj noge su blago savijene i rotirane put spolja. Linearna sonda ultrazvučnog aparata se postavlja ispred medijalnog maleoulsa odakle i počinjemo pregled. Vena se detektuje na monitoru kao kružna struktura kolapsibilna na kompresiju sondom (slika 18). Pomeranjem sonde pratimo pravac pružanja velike safenske vene i ujedno na koži obeležavamo. Pored pravca pružanja veoma je važno odrediti dijametar vene, to činimo obično u predelu maleolusa, na sredini potkolenice, neposredno ispod kolennog zgloba, na sredini butine. Ukoliko je dijametar < od 2 mm ili > od 5 mm takve vene nisu korišćene kao graftovi i bolesnici nisu bili uključivani u studiju. U slučaju postojanja neke sumnje merenje možemo izvršiti na bilo kom delu toka safenske vene. Drugi parametar koji pratimo jeste dubina prostiranja vene u odnosu na površinu kože, ukoliko se vena prostire na dubini manjoj od 3mm ispod površine kože takve vene nisu bile povoljne za endoskopsku i no-touch tehniku preparacije i bolesnici su bili isključivani iz studije. Ovom metodom takođe detektujemo i obeležavamo velike bočne grane i perforatore, koji mogu komplikovati preparaciju grafta. Mapping uključuje i detekciju venskih varikoziteta koji predstavljaju kontraindikaciju za upotrebu vene kao grafta.



Slika 18. Ultrazvučni pregled velike safenske vene

Obaveštenje i informisani pristanak ispitanika

Svaki ispitanik koji se po uključujućim kriterijumima kandidovao za učešće u istraživanju dobio je formular u kome se navodi kratko objašnjenje istraživanja koje objašnjava postojanje rizika od učešća u studiji. Takođe je svaki ispitanik nakon informisanja potpisao pristanak za učešće u istraživanju.

Randomizacija ispitanika

Ispitanici koji su ispunili uslove za ulazak u studiju randomizovani su prostom randomizacijom kompjuterskim programom u tri različite grupe u zavisnosti od hirurške tehnike pripreme venskih graftova.

Demografske i preoperativne karakteristike

Ispitanicima koji su uključeni u istraživanje preoperativno su u excel tabelu upisivani demografski podaci pacijenata (pol, starost, mesto življenja) i prethodni faktori rizika i bolesti (hipertenzija, dijabetes melitus, hiperlipidemija, periferna vaskularna bolest, hronična obstruktivna bolest pluća, hronična bubrežna bolest, prethodni srčani infarkti, srčana slabost, i druge bolesti). Svaki ispitanik je skorovan EuroSCORE II kalkulatorom na osnovu kojeg je određenja predikcija mortaliteta ispitanika.

3.3. Preparacija i priprema venskih graftova

Nakon sterilne pripreme operativnog polja vrši se preparaciji venskih graftova na tri različita hirurška načina a na osnovu randomizacije pacijenta.

Klasična tehnika

Ova metoda je ujedno i najzastupljenija u našoj svakodnevnoj hirurškoj praksi obuhvata nekoliko faza pripreme grafta:

1. Ekspozicija velike safenske vene

Podrazumeva longitudinalnu inciziju kože i potkožnog tkiva upravno u odnosu na pravac pružanja vene, počevši od regije medijalnog maleolusa prema kolenu ili butini. Dužina incizije direktno zavisi od broja venskih graftova koji su neophodni (jedan graft zahteva inciziju od 20-25 cm u zavisnosti od dimenzija srca, mesta distalne anastomoze, konstitucije pacijenta i zahteva hirurga). Presecanje kože i potkože vrši se skalpelom ili makazama. Tokom

ove faze preparacije neophodno je uporedo sa presecanjem raditi hemostazu podvezivanjem presečenih površnih kutanih i potkožnih vena. Naročito je važno voditi računa prilikom pravljenja kožne incizije, da ne bi došlo do povređivanja velike safenske vene naročito ako je ona lokalizovana u površinskim slojevima neposredno ispod derma (obično kod mršavijih pacijenata i osoba ženskog pola). Posle incizije kože i potkože sledi faza fine preparacije vene i njeno odvajanje od bočnih grana.

2. Preparacija vene i podvezivanje bočnih grana

Ova faza zahteva korišćenje finih makaza za preparaciju a ujedno i zahteva fine poteze hirurga kako ne bi došlo do povređivanja veoma fragilnih struktura. Smanjenom manipulacijom instrumenata redukuje se stepen oštećenja vene i svodi na minimalne vrednosti. Preparacija počinjemo od medijalnog maleolusa postepenim odvajanjem vene iz njene adventicijalne lože i preparisanjem, podvezivanjem i presecanjem bočnih grana. Tokom preparacije posebnu pažnju treba posvetiti očuvanju safenskog nerva. Povreda nerva izaziva kratkoročne i dugoročne bolne senzacije i ispade u senzibilitetu potkolenice i stopala. Podvezivanje bočnih grana se izbodi lanenom ligaturom 100, tako da čvor padne na odgovarajuće mesto. U slučaju da se ligatura veže preblizu glavnog stabla to će uzrokovati njeno sužavanje i uvrtnje, a u slučaju da je ligatura vezana predaleko ostaje mrtvi prostor koji može biti mesto potencijalnog stvaranja tromba. Tokom faze preparacije vena se uvek održava u vlažnoj sredini.

3. Kanulacija i razduvanje vene

Nakon završene preparacije vene proksimalni deo se klemuje *mosquito peanom* i zatim preseče. U lumen vene se ubacuje metalna kanila preko koje ubrizgavamo fiziološki rastvor dok je na distalnom delu vene postavljena fina *bulldog klema*. Ovim postupkom umreno dilatiramo venu koja se često spazmira tokom preparacije a ujedeno i proveravamo integritet venskog zida i postojanje grana koje nisu podvezane. Tokom ubrizgavanja fiziološkog rasvora vodimo računa o intenzitetu pritiska kako bi sprečili barotraumu vene i njenu prekomernu distenziju. U slučaju oštećenja zida vene i posledičnog isticanja tečnosti pribegava se prošivanju iste primenom finih prolenskih šavova 7-0 i 8-0. Ukoliko je moguće deo na kome je vena oštećena eliminišemo i ne koristimo kao graft.

4. Skladištenje i prezervacija graftova

Pre presecanja vene iz svog ležišta uvek se konsultuje glavni hirurg da li je vena zadovoljavajuće dužine i kvaliteta. Nakon pripreme venski graftovi se prezerviraju u posudi sa

fiziološkim rastvorom, i ostaju što kraći period do implantacije. Tečnost u činiiji za skladistenje je sobne temperature.

5. Zatvaranje rane na nozi

Nakon okluzije proksimalnog i distalnog kraja velike safenske vene, neophodno je učiniti još jedan detaljan pregled hemostaze. Bilo koji izvor krvarenja neophodno je ligirati ili klipsovati. Nakon toga se rekonstrukcija rane sprovodi po slojevima. Potkoža se prošiva kontinuiranim over-over resorptivnim polifilamentnim šavom 0 ili 2-0 u zavisnosti od anatomske konstitucije. U slučaju da je potkožno tkivo debelo šivenje se može izvesti u više slojeva. Nakon zadovoljavajuće aproksimacije potkože koža se prošiva u zavisnosti od afiniteta hirurga ili intradermalnim resorptivnim ili najlonskim šavom.

Nakon kompletnog ušivanja rane, noga se premazuje antiseptičnim sredstvom, pokriva se sterilnim gazama i umotava bandaž zavojem od vrhova prstiju do butine. U slučaju oslabljenih pulseva bandažni zavoj stoji zamotan do kraja operacije i reverzije heparina nakon čega se uklanja.

Preparacija vene bez dodira (no-touch tehnika)

Tehnika pripreme venskog grafta kojom nas je naučio lično njen izumitelj prof. dr Domingos Souza sa klinike Örebro iz Švedske.

Tehnika podrazumeva preparaciju vene sa okolnim tkivom u vidu peteljke, što protektuje venu od spazma i oštećenja tokom preparacije. Okolno tkivo vene predstavlja spoljašnu potporu veni i ujedno sprečava spazam i knikovanje nakon implantacije.

1. Ekspozicija velike safenske vene

Kao i u prethodnoj tehnici ekspozicija se izvodi longitudinalnom incizijom kože skalpelom u dužini potrebnoj za dužinu graftova. Potkožno tkivo se postepeno prepariše, za razliku od klasičnog metoda preparacije. Preparacija potkožnog tkiva vrši se elektro-nožem (Dijatermijom) snagom struje do 20. Suština preparacije je da se oko vene prezervira fascija i na taj način sačuva eksterna potpora venskog grafta. Tokom ove faze pripreme krvni sud se samo nazire kroz tkivo koje ga okružuje.

2. Preparacija no touch tehnikom

Preparacija vene se izvodi zajedno sa okolnim tkivom. Preciznim potezima dijatermije se vrši postepeno odvajanje peteljke venskog grafta od ostatka potkožnog tkiva. Bočne grane se preparišu i podvezuju slično kao i kod klasične tehnike pripreme.

3. Kanulacija i razduvavanje vene

Nakon kompletno preparacije vena se na krajevima podvezuje i preseca. U proksimalni kraj se ubacuje metalna kanila koja služi za propiranje vene. Ključna razlika u pripremi u odnosu na klasičnu pripremu venskog grafta je u razduvavanju. Kod ove tehnike nema razduvavanja fiziološkim rastvorom. Već se to vrši preko specijalnog konektora na arterijskoj kanili kada se heparinizirana krv po pritiskom koji vlada u sistemske cirkulaciji pušta preko kanile u venski krvni sud. Ovim postupkom se dilatira vena ako je došlo do njenog spazma a ujedno se i proverava hemostaza i kontinuitet i kvalitet venskog grafta.

4. Skladištenje i prezervacija grafta

Nakon pripreme venski graftovi skladišteni su u fiziološki rastvor sobne temperature. Slično kao i kod klasičnog načina pripreme.

5. Zatvaranje rane na nozi

Ova faza se izvodi slično kao i prethodna, s tim što treba naglasiti da kod no - touch tehnike nastaje veći defekt potkože tako da šivenje mora biti veoma pažljivo kako bi se prevenirale komplikacije infekcije i dehiscencije rane. Šivenje se izvodi resorptivnim polifilamntnim šavom kontinuirano sa hvatanjem fascije mišića na dnu rane, na taj način se defekt potpuno zatvara. Kože se ušiva resorptivnim ili najlonskim šavom u zavisnosti od afiniteta hirurga.

Nakon kompletnog ušivanja rane, noga se premazuje antiseptičnim sredstvom, pokriva se sterilnim gazama i umotava bandaž zavojem od vrhova prstiju do butine. U slučaju oslabljenih pulseva bandažni zavoj stoji zamotan do kraja operacije i reverzije heparina nakon čega se uklanja.

Endoskopska tehnika

Za razliku od predhodne dve tehnike, endoskopska tehnika je najskorijeg datuma. Glavna razlika je što se ovom tehnikom isključuje kompletna incizija kože i potkožnog tkiva u dužini graftova koji su neophodni, nasuprot tome ona zahteva par malih rezova koji su neophodni za

operativni rad. Takođe je neophodno znati da ova tehnika iziskuje dodatnu opremu i setove koji su neophodni za hirurški rad.

1. Oprema korišćena za endoskopsku preparaciju vene

- Endoskopski stub Wolf sa pratećom opremom i endoskopom 5.5 mm.
- VirtuoSaph®Plus Endoscopic Vessel Harvesting System proizvođača (Terumo, Tokyo, Japan) koji sadrži sterilni Dissector, Harvester i Trocar.

Disketor je deo VirtuoSaph®Plus Endoscopic Vessel Harvesting sistema sačinjen od PTFE (Politetrafluoroetilena) velike glatkoće. Sadrži atraumatski konični vrh koji uključuje sistem za distribuciju CO₂.

Harvester je instrument koji se sastoji od V- keeper ili V lock (koji služi za zaudavanje vene nakon preparacije disektorom), V- cutter (služi za presecanje i koagulaciju bočnih grana tokom procesa preparacije vene).

Trocar služi kao port za ulazak harvestera u tunel koji je napravljen tokom faze disekcije.

1. Ekspozicija safenske vene

Ključna razlika endoskopske tehnike preparacije jeste isključivanje veoma dugih rezova koje koristimo kod prethodne dve metode. Najčešće se pravi mala kožna incizija u dužini od 1-2 cm na medijalnoj strani potkolenice neposredno ispod kolenog zgloba, tačnije unutrašnjom ivicom gastroknemičnog mišića. Nakon incizije vrši se preparacija i detekcija vene u potkožnom tkivu. Nakon detekcije vena se veoma pažljivo odvoji od okolnog tkiva i zauzda silikonskom trakom ili lanenom ligaturom.

2. Disekcija i preparacija endoskopskom tehnikom

Disektor spojen sa optikom i izvorom CO₂ (maksimalnog pritiska 12 mmHg i protok 3-4 l/min) uvodi se kroz inciziju na koži neposredno ispod vene. Nakon toga se zadnjom stranom uz neposrednu blizinu krvnog suda nežnim pokretima gura put napred prema medijalnom maleolusu. Nakon završetka preparacije zadnje strane disektor se izvlači put spolja i zatim se vrši preparacija i odvajanje vene sa prednje strane. Preparacija uključuje i bočne grane, veoma nežnim pokretima napred nazad vrši se odvajanje bočnih grana od okolnog tkiva i postepeno spuštanje vene u formirani tunel u potkožnom tkivu. Kada se završi preparacija vene dovoljne dužine za broj graftova koji je neophodan prelazi se na sledeću fazu preparacije koja podrazumeva presecanje bočnih grana. Ova faza podrazumeva zamenu *disektora* novim

instrumentom *harvesterom* koji služi za preparaciju bočnih grana krvnog suda. Princip podrazumeva obuhvatnje ispreparisane vene, detekcija bočnih grana i njihovo presecanje V cut bipolarnom dijatermiom snagom 12. Nakon presecanja svih bočnih grana, na distalnom delu ispreparisanog krvnog suda se pravi punktiformni rez kroz koji je peanom hvata vena i izvlači na površinu gde se podvezuje i preseca. Vena se nakon toga izvlači harvesterom na površinu kože.

3. *Kanulacija i razduvavanje vene*

Nakon završene preparacije u lumen vene se ubacuje metalna kanila preko koje ubrizgavamo fiziološki rastvor dok je na distalnom delu vene postavljena fina *bulldog klema*. Ovim postupkom umreno dilatiramo venu koja se često spazmira tokom preparacije a ujedno i proveravamo integritet venskog zida i postojanje grana koje nisu podvezane. Tokom ubrizgavanja fiziološkog rastvora vodimo računa o intenzitetu pritiska kako bi sprečili barotraumu vene i njenu prekomernu distenziju. Bočne grane se podvezuju lanenom ligaturom. U slučaju oštećenja zida vene i posledičnog isticanja tečnosti pribegava se prošivanju iste primenom finih prolenskih šavova 7-0 i 8-0. Ukoliko je moguće deo na kome je vena oštećena eliminišemo i ne koristimo kao graft.

4. *Skladištenje i prezervacija grafta*

Nakon pripreme venski graftovi skladišteni su u fiziološki rastvor sobne temperature. Slično kao i kod klasičnog načina pripreme.

5. *Zatvaranje rane na nozi*

Kod ove tehnike kožna incizija napravljena za endoskopske instrumente se zatvara pomoću dva pojedinačna šava, takođe se punktiformne incizije na krajevima preparacije zatvaraju pojedinačnim šavom.

Nakon ušivanja incizionih mesta noga se uvija bandaž zavojem umerenom jačinom kompresije. U slučaju oslabljenih pulseva bandažni zavoj stoji zamotan do kraja operacije i reverzije heparina nakon čega se uklanja.

3.4. Uzorkovanje i obrada patohistološkog materijala

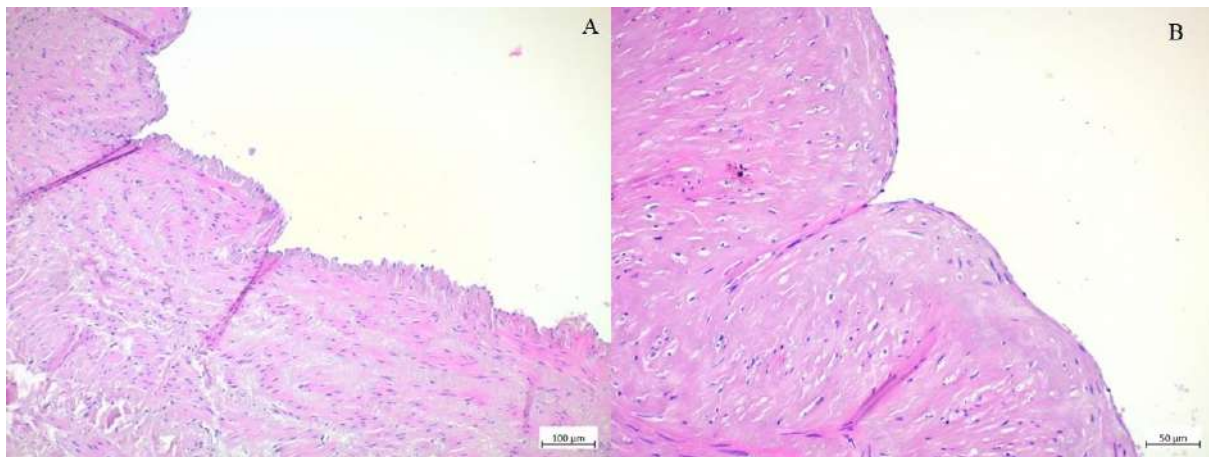
Uzorak vene safene dug 1 cm uzet je od svih pacijenata podvrgnutih konvencionalnoj, endoskopskoj i „no-touch“ hirurškoj tehnici, bez prethodne distenzije same vene (u CVH i

EVH grupama). Dobijeni uzorci vena fiksirani su potapanjem isečaka u 10%-tni rastvor neutralnog formalina. Pre same laboratorijske obrade, načinjena su tri poprečna preseka vena debljine do 3mm, od svakog dobijenog venskog uzorka, a potom su isti pakovani u numerički obeležene nosače parafina (modle). Tkivni isecci su oblikovani u parafinske blokove i sečeni u debljini od 3 μ m korišćenjem mikrotoma (Leica RM2255, Leica Microsystems, Nussloch, GmbH, Germany). Nakon deparafinizacije u termostatu i ksilolu, histološki preparati su rehidratirani provođenjem kroz opadajuće koncentracije etanola (100%, 96%...) i dovedeni do destilovane vode. Usledilo je bojenje hematoksilinom u trajanju od 8 minuta, a zatim ispiranje pod u tekućoj i destilovanoj vodi. Nakon toga, tkivni isecci su bojeni eozinom u trajanju od 20 minuta, isprani tekućom i destilovanom vodom i dehidratirani u rastućim koncentracijama alkohola (96%, 100%), potom prosvetljeni primenom ksilola i na kraju montirani korišćenjem kanada balsama i pokrovnih stakalca.

Dobijeni histološki preparati su analizirani korišćenjem svetlosnog mikroskopa marke Olympus BX50 (Olympus, Japan) opremljenim digitalnim fotoaparatom Leica DFC 295 (Leica Microsystems, Germany) pod različitim uvećanjima. Patohistološka evaluacija je bila usmerena na procenu integriteta intimalnog sloja i stepenu degenerativnih promena u unutrašnjoj elastičnoj membrani, elastičnim i glatkim mišićnim vlaknima medijalnog i rastresitom vezivnom tkivu adventicijalnog sloja, kao i na prisustvu vasa vasorum i okolnog perivaskularnog masnog tkiva (Slika 19,20,21). Uočene patohistološke promene su gradirane kao: 0 – odsutne, 1 – minimalne, 2 – blage, 3 – umerene, 4 – izražene, 5 – veoma izražene, 6 – ekstenzivne/teške.

Gradusnom ocenom 0 označene su vene bez ikakvih strukturnih oštećenja u svim slojevima zida, sa očuvanim perivaskularnim masnim tkivom; gradusnom ocenom 1 označene su vene sa minimalnim narušavanjem integriteta endotela (<10%), ponegde u vidu istezanja ili odvajanja od subendotelno sloja, fokalno oštećenim perivaskularnim masnim tkivom i adventicijalnog sloja bez strukturnog oštećenja vasa vasorum i čitavog medijalnog sloja; gradusnom ocenom 2 – označene su vene sa fokalnim istezanjem ili odvajanjem endotelno sloja (<25%), bez oštećenja unutrašnje elastične membrane i medijalnog sloja zida, ali sa blagim oštećenjem adventicijalnog rastresitog veziva i vasa vasorum, uključujući i oštećenje perivaskularnog masnog tkiva; gradusnom ocenom 3 označeni su uzorci sa evidentnim istezanjem endotela (25-50%), u nekim slučajevima fokalnim odvajanjem, sa minimalnim oštećenjem elastične mebrane i medijalnog sloja, ali srednje umerenim oštećenjem adventicijalnog sloja i vasa vasorum, kao i odsustvom perivaskularnog masnog tkiva; gradusnom ocenom 4 označene su

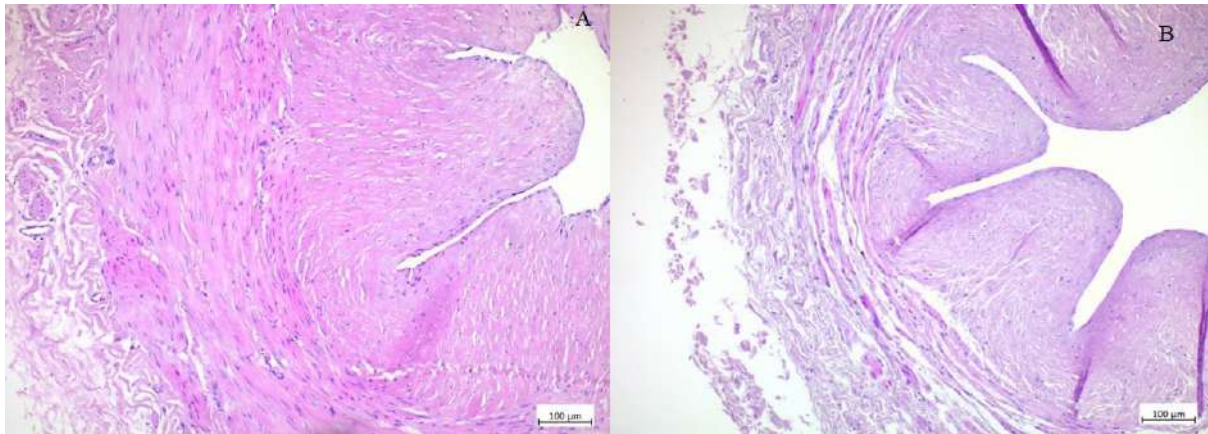
vene sa >50% oštećenim, odvojenim endotelom, fokalno oštećenom elastičnom membranom, ponegde sa fokalnim odvajanjem mišićnih vlakana medijalnog sloja, kao i oštećenim adventicijalnim slojem i delimično odsutnim vaskularnim strukturama (vasa vasorum); gradusnom ocenom 5 označene su vene sa vrlo izraženim (subtotalnim) oštećenjem intimalnog sloja – endotela (<75%), praćene diskontinuitetom intimalnog od dubljih slojeva zida, kao i elastičnih i mišićnih vlakana medijalnog sloja sa izraženim defektima adventicijalnog sloja i odustvom vasa vasorum; vene sa potpuno narušenim integritetom endotela, razdvojenim/separisanim elastičnim i mišićnim vlaknima medije, kao i izrazito oštećenim, gotovo odsutnim adventicijalnim slojem, uključujući i potpuno odsustvo vasa vasorum definisani su gradusnom ocenom 6.



Slika 19. Zid velike safenske vene bojen hematoksilin-eozinom

A – Oštećena tunica intima

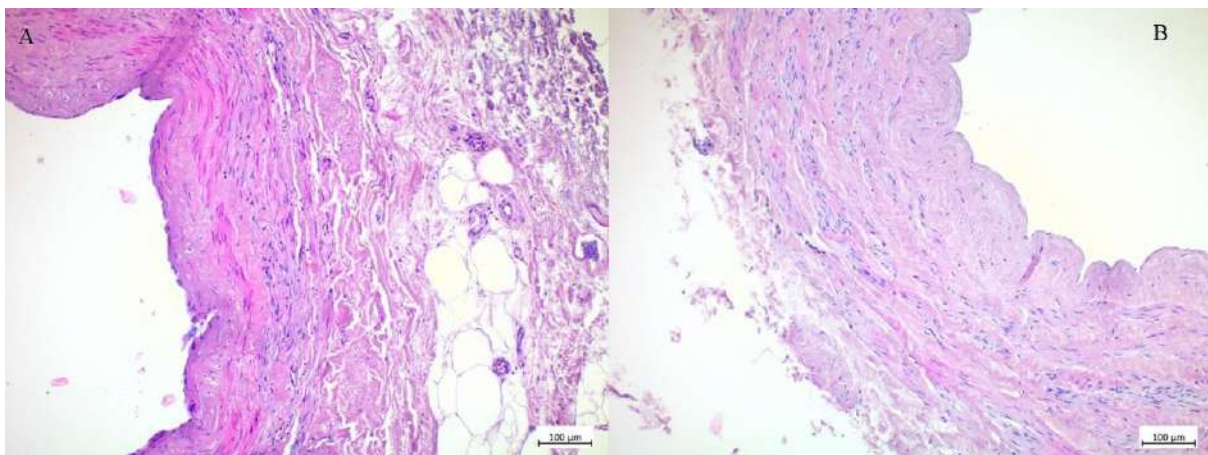
B – Očuvana tunica intima



Slika 20. Zid velike safenske vene bojen hematomksilin-eozinom

A – Očuvana *tunica media*

B – Oštećena *tunica media*



Slika 21. Bojenje hematomksilin-eozin

A – Očuvana *tunica adventitia*

B – Oštećena *tunica adventitia*

Imunohistohemijska analiza

Uzorci vena su fiksirani u formalinu i uklopljeni u parafin, sečeni na mikrotomu u debljini do 3 µm, a zatim montirani na predmetna stakla. Nakon deparafinizacije, usledila je rehidracija sa opadajućim koncentracijama etanola (100%,96%...) dovođenjem do destilovane vode. Proces bojenja nastavljen je inkubacijom tkivnih isečaka sa tripsinom u cilju demaskiranja antigena u trajanju od 90 min, nakon čega je usledila blokada endogenih (tkivnih) peroksidaza primenom 3% rastvora vodonik peroksida u trajanju od 10 min. Procedura je nastavljena

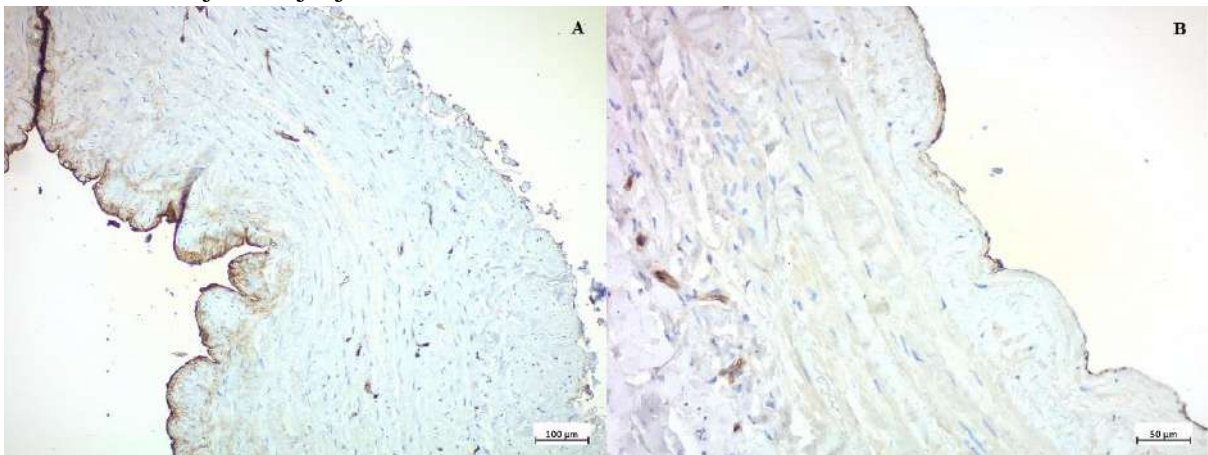
demaskiranjem antigena, odnosno izlaganjem tkivnih preseka visokoj temperaturi potopljenih u odgovarajući pufer za demaskiranje (Tabela 1). Usledila je inkubacija sa primarnim antitelom (zečije poliklonalno antitelo na Caveolin, proizvođač: Abcam, razblaženje 1:350; zečije poliklonalno antitelo na eNOS, proizvođač: Abcam, razblaženje 1:200; zečije poliklonalno antitelo na von Willebrandov factor, proizvođač: DAKO, ready to use; mišije monoklonalno antitelo na CD31, proizvođač: DAKO, ready to use) u vlažnoj komori, nakon čega su tkivni uzorci ispirani u TBS-u tri puta u trajanju od 3 minuta. Posle ispiranja usledila je inkubacija preseka sa Primary Antibody Enhancer komponentom kita, a sledeći korak je predstavljao inkubaciju preseka sa fotosenzitivnim HRP Polymer reagensom. Tkivni preseci su potom inkubirani u rastvoru mešavine supstrat-hromogen (3,3-diaminobenzidin – DAB, Dako Liquid DAB+ Substrate Chromogen System, K3467), isprani tekućom vodom i kontrastirani Mayerovim hematoksilinom. Nakon toga je izvršena dehidracija tkivnih preseka, primenom serije rastućih koncentracija etanola, a isti su potom pokriveni odgovarajućom sintetskom smolom i pokrovnim staklom.

Rezultati: Na mestima gde je traženi antigen bio prisutan u tkivu uočen je precipitat hromogena braon boje (oksidisani produkt diaminobenzidina i peroksidaze – mesta vezivanja odgovarajućeg antigena i za njega specifičnog antitela), za razliku od okolnog tkiva koje je bojilo plavo (hematoksilin) jedra i membrane ćelija.

Kontrola kvaliteta i specifičnosti imunohistohemijske reakcije

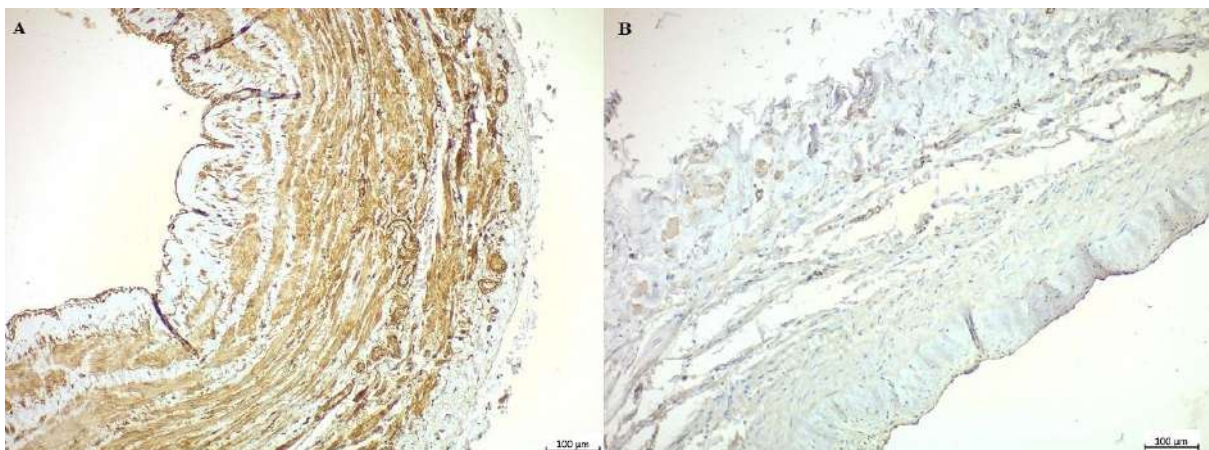
Tokom procesa bojenja preparata paralelno se boje i “pozitivni“ i “negativni“ kontrolni uzorci radi potvrde specifičnosti i kvaliteta imunohistohemijske metode. Kao pozitivna kontrola u toku imunohistohemijskog bojenja korišćeni su tkivni uzorci za koje je ranije utvrđeno da sadrže antigene koje je moguće vizuelizovati primenjenom metodom. Ovi preseci su tretirani na isti način kao i ispitivani tkivni uzorci. Negativnu kontrolu (kontrola reagenasa) predstavljali su tkivni uzorci na koje se umesto primarnih antitela aplikovan neimunizovani serum.

Imunohistohemijška analiza zasnovana je na semikvantitativnoj proceni pozitivne ekspresije imunohistohemijških markera: Caveolin, eNOS, von Willebrand factor i CD31. Svi preseki vena podvrgnuti su detaljnoj patomorfološkoj evaluaciji radi utvrđivanja stepena defektnosti i gubitka integriteta endotelnog, medijalnog i adventicijalnog sloja (slike 22,23,24) uz poseban osvrt na imunohistohemijšku vizuelizaciju oštećenja vaskularnih elemenata adventicije (vasa vasorum) i skorirani kao: 0 – negativno imunohistohemijško bojenje, 1 – imunohistohemijška pozitivnost – bojenje u tragovima (fokalna), 2 – minimalna imunohistohemijška pozitivnost, 3 – umereno imunohistohemijško bojenje, 4 – jako pozitivno imunohistohemijško bojenje.



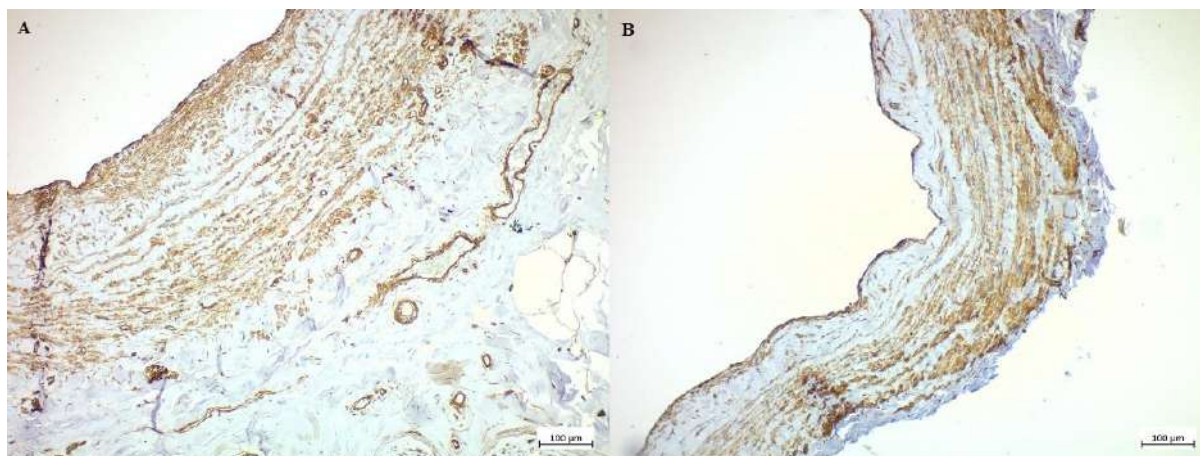
Slika 22. Bojenje endotela antitelom CD31

A – očuvane endotelne ćelije
B – oštećene endotelne ćelije



Slika 23. Bojenje Caveolin antitelom *tunica media*

A – očuvana glatkomišićna struktura
B – raslojavanje i dovajanje glatkomišićnih ćelija



Slika 24. Bojenje Caveolin antitelom *tunica adventitia*

A – očuvana adventicija i vaza vazorum

B – oštećena adventicija i vaza vazorum

Tabela 1. Korišćena antitela, njihovi proizvođači, razblaženje, pretretman, inkubacija, kit i kataloški broj

Primarno antitelo	Proizvođač / Kataloški. br.	Razblaženje	Pretretman	Inkubacija AT	Kit	Proizvođač / Kataloški. br.
Rabbit Anti-Caveolin 1 antibody - Caveolae Marker, polyclonal	Abcam, ab2910	1:350	Epitope retrieval solution pH9, 20 min, mikrotalasna pećnica	30 min na sobnoj T	Ultravision LP- HRP polymer	Thermoscientific / Cat. No. TL-125-HL
Rabbit polyclonal Anti-eNOS antibody	Abcam, ab5589	1:200	0,01M citratni pufer pH6, 20 min, mikrotalasna pećnica	preko noći na +4°C	Ultravision LP- HRP polymer	Thermoscientific / Cat. No. TL-125-HL
Rabbit polyclonal von Willebrand Factor	DAKO FLEX IS527	Ready to use (RTU)	Epitope retrieval solution pH9, 20 min, mikrotalasna pećnica	30 min na sobnoj T	Ultravision LP- HRP polymer	Thermoscientific / Cat. No. TL-125-HL

Mouse monoclonal Anti-CD31, Endothelial Cell, Clone JC70A	DAKO FLEX IS610	Ready to use (RTU)	Epitope retrieval solution pH9, 20 min, mikrotalsna pećnica	30 min na sobnoj T	Ultravision LP- HRP polymer	Thermoscientific / Cat. No. TL-125-HL
---	-----------------------	--------------------	---	--------------------	-----------------------------	--

3.5. Intraoperativni i rani postoperativni neželjeni događaji

Uključuju informacije upisane u excel bazu nakon operativnog zahvata i tokom boravka ispitanika u bolnici.

Intraoperativni podaci uključuju (datum operacije, broj urađenih bypaseva, vrstu graftova koje smo koristili za revaskularizaciju i način konstruisanja distalne i proksimalne anastomoze, način i mesto preparacije venskih graftova, dijametar, dužina i kvalitet vene, mesto uzorkovanja materijala, krvne sudove srca koje smo revaskularizovali kao i njihove dijemetre na mestu anastomoze i distalno, trajanje operacije, dužina trajanja mašine za vantelesni krvotok i trajanje kleme odnosno ishemiskog srčanog aresta).

Rani postoperativni rezultati uključivali su: drenažu unutar šest i 24 časova od procedure, dužinu trajanja mehaničke ventilacije, zahteva za krvnim derivatima, eksploracija grudnog koša zbog krvarenja, vrednosti kardiospecifičnih enzima high sensitive troponin I, CK, CK-MB, promene u EKG monitoringu nakon operacije, dužina boravka u intenzivnoj nezi i bolnici.

Rani period praćenja do 30 dana

Rani period praćenja ispitanika usmeren je na velike neželjenije događaje koji su zabeleženi intrahospitalno i kasnije do 30 dana tj. prve kontrole bolesnika. Izvodi se kliničkim pregledom hirurga ili kardiologa u zavisnosti od vrste patološkog problema. Ovi neželjeni događaji predstavljaju sekundarne ciljeve istraživanja i odnose se na velike kardiovaskularne i cerebrovaskularne neželjene događaje, mortalitet, kao i komplikacije rana naročito na mestu preparacije velike safenske vene.

Kardiovaskularni neželjeni događaji

1. *Angina pectoris* - definisana prema svetskoj zdravstvenoj organizaciji kao bol u grudima ili diskomfor koji ograničava fizičku aktivnost (šetanje uzbrdo) lokalizovana oko grudne kosti ili levoj strani grudnog koša sa tendencijom širenja u levu ruku a koji prolazi nakon 10 minuta odmora ili uzimanjem nitroglicerina (45).

2. *Perioperativni infarkt miokarda* – karakterišu bolovi ili nelagodnost u predelu grudnog koša, praćene EKG promenama koje predstavljaju ishemiju, uz novonastale ispade u kinetici srčanog mišića i elevaciju kardiospecifičnih enzima (petostruko povećanje CK-MB frakcije 99th percentila normalne referentne vrednosti i povećanje visoko senzitivnog Troponina I) (46).
3. *Rekoronarografija ili naknadna revaskularizacija* – izvođenje naknadne evaluacije koronarnog korita i konstruisanih graftova zbog hemodinamske ili ritmološke nestabilnosti nakon hirurške revaskularizacije. Procedura podrazumeva evaluaciju u sali za kateterizaciju sa posledičnim plasiranjem stenta ili uvođenje u operacionu salu i konstruisanje dodatnog *bypass*-a na teritoriji krvnog suda koji pravi ishemijske probleme.

Cerebrovaskularni događaji

1. *Tranzitorni ishemijski atak (mini šlog)* – kratkotrajni neurološki deficit (amaurose fugax, konfuzija ili nemogućnost govora, utrnulost ili slabost jedne strane tela, gubitak balansa i koordinacije) koje traje manje od 24h, bez novonastalih zona ishemije moždanog parenhima na kontrolnom CT pregledu.
2. *Šlog* – definisan kao novonastali neurološki deficit koji prati pareza ili plegija jedne strane tela, i potvrđena novonastala ishemijska ili hemoragijska lezija nakon urađenog kontrolnog CT snimka.

Mortalitet

Rani mortalitet definisan kao smrtni ishod unutar 30 dana od dana operativnog zahvata. Podelu smo izvršili na *smrtni ishod kardijalnog porekla* kod kojih je uzrok smrti zbog patološkog stanja srca koje je do toga dovelo. *Nekardijalni uzrok smrti* sva ostala patološka stanja ili akcidenti koji mogu dovesti do smrtnog ishoda.

Komplikacije zarastanja presteralne rane

1. *Površinska infekcija grudne rane* je definisana kao infektivni proces koji zahvata kožu potkožno tkivo i pektoralnu fasciju, bez širenja infekcije na grudnu kost. Klinička slika je blaga prati je crvenilo oko rane, dehiscencija svih slojeva, drenaža rane (seropurulentna ili purulentna), retko povećanje telesne temperature. Brisom je jasno izolovan uzročnik infekcije.

2. *Duboka sternalna infekcija* je definisana na osnovu sledećih kriterijuma 1) izolovani uzročnik infekcije iz medijastinalnog tkiva ili tečnosti, 2) prisustvo bola ili nestabilnosti grudne kosti, 3) telesna temperatura preko 38 C i gnojna drenaža iz medijastinuma (47).

Komplikacije rana na mestu preparacije velike safenske vene

1. *Infekcija i dehiscencija rane na nozi* – je praćenja crvenilom rane, pojavom seropurulentnog ili purulentnog sekreta rane uz razilaženje svih slojeva rane. Kao i izolovanjem uzročnika infekcije mikrobiološkim pregledom.



Slika 25. Dehiscencija rane na mestu uzimanja velike safenske vene



Slika 26. Infekcija rana na nozi nakon uzimanja velike safenske vene

2. *Bol na mestu preparacije* – hronični bolni nadražaj na mestu kožne incizije ili njenoj neposrednoj blizini. Može se javljati periodično ili u kontinuitetu duži vremenski period, i mora se kupirati medikamentoznom terapijom za bol.
3. *Parestezije i gubitak senzibiliteta na mestu preparacije vene* – neurološki ispadi senzibiliteta u vidu trnjenja, mravinjanja ili bockanja različitog intenziteta i trajanja a u neposrednoj blizini rane ili dorzalnoj strani stopala definisani su kao *parestezije*. Potpuno odsustvo osećaja senzibiliteta oko rane ili dorzuma stopala definisano je kao *gubitak senzibiliteta*.

Kasni period praćenja godinu dana nakon operativnog lečenja

Uključuje telefonski razgovor hirurga i bolesnika godinu dana nakon operativnog zahvata. Ima za cilj da utvrdi postojanje velikih neželjenih kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih događaja u prethodnom periodu. Takođe registruje mortalitet i neposredni uzrok smrti i njenu kvalifikaciju u predhodno navedene dve kategorije. Komplikacije hirurških rana kao što su infekcije, dehiscencije sa posebnim osvrtom na mesto preparacije velike safenske vene. Neurološke komplikacije u vidu bola, parestezija, utrnulosti i otoka ekstremiteta na mestu uzimanja velike safenske vene.

3.6. Statistička analiza

Potrebna minimalna veličina uzorka za detekciju veličine efekta od 0.5 u analizi varijanse tri grupe varijabli za nivo statističke značajnosti od 0.05 i statističku snagu od 0.9 iznosi 54 ispitanika. Veličina efekta dobijena je na osnovu pretpostavljenih odnosa vrednosti objašnjene i rezidualne varijanse od 0.2 prema 0.98. Izračunavanje veličine uzorka uradjeno je pomoću programa G-power 3.1.6

Podaci studije su obrađivani statističkim softverom SPSS 25.0 za Windows 10. Sve statističke metode su smatrane značajne ukoliko je p vredost bila ≤ 0.05 . Deskriptivna statistička analiza je uključivala srednju vrednost, medijanu, standardnu devijaciju, i interkvartilnu razliku pomenutih parametara. Razlika u distribuciji specifičnih parametara između testiranih grupa je bila determinisana primenom χ^2 ili Fisher's test. Normalnost distribucije numeričkih varijabli je bila testirana primenom Shapiro Wilk i Kolmogorov Smirnov testovima. Komparacija između grupa je učinjena je primenom ANOVA i Kruskal-Wallis H testovima. Binomna logistička regresiona analiza je korišćena da detektuje odnos između zavisnih i nezavisnih binarnih varijabli

4. Rezultati

4.1 Demografski podaci

Istraživanje je uključilo 83 ispitanika koji su randomizovani u tri grupe na osnovu hirurških tehnika koje smo koristili za pripremu VSV. *Prva grupa* ispitanika kod kojih je velika safenska vena pripremljena klasičnom tehnikom uključila je 27 ispitanika prosečne starosti $67,66 \pm 5,6$ godina, od kojih su 13 (48%) bili ispitanici muškog pola. *Druga grupa* je uključila 31 ispitanika kod kojih je velika safenska vena preparisana tzv. No - touch tehnikom, prosečna starost grupe iznosila je $66,5 \pm 7,5$ godina od kojih je 23 (74%) bilo muškog pola. Treća grupa uključivala je pacijente kod kojih je vena pripremljena endoskopskom tehnikom, ukupan broj ispitanika je iznosio 25, a prosečna starost $66 \pm 5,5$ godina, od kojih je 18 (75%) bilo muškog pola. Svi bolesnici su bili u grupi niskog operativnog rizika procenjenog EuroSCORE II čije su vrednosti bile 1.8 (IQR 1.2-3.2) za klasičnu grupu, 1.8 (IQR 1.2-2.85) za no-touch grupu i 2.11 (IQR 1.5-2.9) za endoskopsku grupu. Hereditet za koronarnu bolest koji je bio statistički učestaliji u trećoj grupi ispitanika (*Hi-kvadr test* $p = 0.02$). Ostale preoperativne karakteristike prikazane u tabeli 2. nisu se statistički razlikovale u ispitivanim grupama.

Tabela 2. Preoperativne karakteristike ispitivanih grupa

Preoperativne karakteristike	Klasična grupa N (27)	No-touch grupa N (31)	Endoskopska grupa N (25)	P vrednost
Muški pol	13 (48%)	23 (74%)	18 (75%)	0.79
Godine	67.66 ± 5.6	66.5 ± 7.4	66 ± 5.5	0.62
Indeks telesne mase	27.38 ± 3.4	26.28 ± 3.6	28.2 ± 3.99	0.15
NYHA				
I	1 (3.7%)	1 (3.2%)	2 (8%)	0.4
II	20 (74%)	23 (74%)	13 (52%)	
III	6 (22.2%)	7 (22.5%)	10 (40%)	
EuroSCORE II	1.8 (IQR 1.2 -3.2)	1.8 (IQR 1.2 -2.85)	2.11 (IQR 1.5 -2.9)	0.58
Hipertenzija	26 (96.3%)	30 (96.8%)	25 (100%)	0.64
Hiperlipidemija	24 (88.8%)	25 (80.6%)	21 (84%)	0.69
Diabetes mellitus	13 (48.1%)	18 (58%)	16 (64%)	0.64
Tip I	2 (15.4%)	6 (33.3%)	4 (25%)	
Tip II	11 (84.6%)	12 (66.6%)	12 (75%)	
PVB	4 (14.8%)	2 (6.45%)	2 (8%)	0.53
HOBP	3 (11.1%)	3 (9.7%)	1(4%)	0.62
HBI	3 (11.1%)	5 (16.1%)	1 (4%)	0.35
Predhodni šlog	2 (7.4%)	2 (6.45%)	2 (8%)	0.99

Pušenje	9 (33.3%)	16 (51.6%)	9 (36%)	0.3
Genetsko opterećenje za KVB	14 (51.8%)	20 (64.5%)	7 (28%)	0.02
Preoperativna medikamentozna terapija				
1. B blokatori	23	32	20	0.8
2. Diuretici	8	7	9	
3. ACE inhibitori	17	20	14	
4. Statini	11	12	13	
5. Digitalis	1	0	0	
6. Aspirin	18	21	10	
7. Plavix	11	16	8	

Skraćenice: KVB – kardiovaskularne bolesti; HOBP – hronična obstruktivna bolest pluća; HBI – hronična bubrežna insuficijencija; PVB – periferna vaskularna boles

Preoperativna koronarna angiografija je pokazala da je prosečan broj zahvaćenih krvnih sudova svih ispitanika bio 3 (IQR 3-3). Difuzna koronarna bolest je statistički bila učestalija u prvoj grupi ispitanika (*Hi-kvadrat test*, $p=0.02$). Ostale angiografske karakteristike bolesnika su prikazane u tabeli 3.

Tabela 3. Preoperativne karakteristike koronarne bolesti

Karakteristike koronarne bolesti	Klasična grupa N (27)	No-Touch grupa N (31)	Endoskopska grupa N (25)	P vrednost
Preoperativni IM	16 (59.2%)	14 (45.1%)	15 (60%)	0.44
Vreme od IM				0.57
1. > 3 meseca	14 (87.5%)	11 (78.6%)	11 (73.3%)	
2. < 3 meseca	0	2 (14.3%)	2 (13.3%)	
3. unutar 30 dana	2 (12.5%)	1 (7.1%)	1 (6.6%)	
4. unutar 7 dana	0	0	1 (6.6%)	
Lokacija IM				0.13
1. Anteroseptalni	5 (33.3%)	2 (14.3%)	1 (6.6%)	
2. Anterolateralni	1 (6.6%)	4 (26.6%)	0	
3. Anteroposteriorni	1 (6.6%)	0	1 (6.6%)	
4. Diaphragmalni	3 (20%)	3 (21.4%)	7 (46.6%)	
Angina pectoris	26 (96.3%)	30 (96.7%)	20 (80%)	0.01 Hi-kvadrat test
1. Stabilna	18 (69.2%)	23 (76.6%)	8 (40%)	
2. Nestabilna	8 (30.7%)	7 (23.3%)	12 (60%)	
Zahvaćenost koronarnih sudova	3 (IQR 3-3)	3 (IQR 3-3)	3 (IQR 3-3)	1

Bolest glavnog stabla	9 (33.3%)	6 (19.3%)	12 (48%)	0.07
Stepen stenose koronarnog krvnog suda				
1. LAD	90 (IQR 70-95)	90 (IQR 80-95)	90 (IQR 80 - 99)	0.65
2. Cx	90 (IQR 80-99)	85 (IQR 80-100)	90 (IQR 80 - 95)	0.93
3. RCA	90 (IQR 75-100)	90 (IQR 80-100)	90 (IQR 80 - 95)	0.44
4. Dg	80 (IQR 65-95)	90 (IQR 90-94)	100 (IQR 80-100) 99 (IQR 68 - 99)	0.68
Difuzna koronarna bolest	11 (40.7%)	3 (9.7%)	5 (20%)	0.02
Predhodne PCI	3 (11.1%)	5 (16.1%)	7 (28%)	0.27

Skraćenice: IM – infarkt miokarda; PCI – perkutana koronarna intervencija

Bolesnici iz treće grupe su imali statistički značajno veće end - dijastolne i end-sistolne dijemetre leve komore na trans-torakalnom ultrazvučnom pregledu srca (*Studentov T test za nezavisne uzorke* $p=0,002$ i $p=0,005$, redom), iako nije bilo značajne razlike u vrednostima ejekcionih frakcija leve komore među grupama. Ostali ehokardiografski parametri prikazani su u tabeli 4.

Tabela 4. Preoperativne ultrazvučne karakteristike

Ehokardiografske karakteristike	Klasična grupa N (27)	No-touch grupa N (31)	Endoskopska grupa N (25)	P vrednost
Ejekciona frakcija (%)	50 (IQR 40-50)	50 (IQR 45 -55)	45 (IQR 27-50)	0.21
EDD (mm)	52.2 ± 4.7	50.2± 4.26	55.1±5.36	0.002
ESD (mm)	34.5±5.36	32.9±5.35	38.2±6.8	0.005
MR (stepen)	1 (IQR 0-1)	1 (IQR 0-1)	1 (IQR 0-2)	0.3

Skraćenice: EDD – end dijastolni dijametar; ESD – end sistolni dijametar; MR – mitralna regurgitacija

Svi pacijenti su operisani primenom mašine za vantelesni krvotok, i kod svih je kao graft za revaskularizaciju teritorije prednje descedentene grane krišćena leva unutrašnja torakalna arterija. Ukupno trajanje procedure je bilo statistički značajno duže u grupi ispitanika sa endoskopski pripremanim venskim graftovima (*Studentov T test za nezavisne uzorke*

p<0.001). Krvna kardioplegija je značajno češće bila korišćena u grupi sa endoskopskom venom (*Hi-kvadrat test* p=0.001). Ostale karakteristike operativnog zahvata prikazane su u tabeli 5.

Tabela 5. Intraoperativne karakteristike ispitivanih grupa

Intraoperativne karakteristike	Klasična grupa N (27)	No-touch grupa N (31)	Endoskopska grupa N (25)	P vrednost
Broj <i>bypass</i> -eva	3 (IQR 3-4)	3 (IQR 2-3)	3 (IQR 3-4)	0.25
Mamarna arterija, n (%)	27 (100%)	31(100%)	25(100%)	1
Velika safenska vena (broj)	2 (IQR 2-2)	2 (IQR 1-2)	2 (IQR 1-3)	0.78
Prosečna dužina VSV (cm)	39.4±8.5	36.4±9.8	38.2±7.9	0.43
Prosečan dijametar VSV (mm)	3.5±0.5	3.4±0.4	3.3±0.5	0.11
Mesto preparacije VSV				
1. Potkolenica	7 (25.9%)	10 (32.3%)	8 (32%)	0.26
2. Natkolenica	2 (7.4%)	8 (25.8%)	6 (19.4%)	
3. Oba	18 (66.6%)	13 (42%)	11 (35.4%)	
Kvalitet VSV				0.13
1. dobar	26 (96.3%)	30 (96.7%)	21 (84%)	
2. loš	1 (3.7%)	1 (3.2%)	4 (16%)	
LAD dijametar (mm)	1.5±0.3	1.5±0.3	1.5±0.2	0.73
RCA dijametar (mm)	1.6±0.5	1.3±0.1	1.5±0.3	0.06 (T test)
Cx dijametar (mm)	1.5±0.4	1.4±0.2	1.5±0.3	0.44
Dg dijametar (mm)	1.23±0.5	1.4±0.3	1.4±0.3	0.49
Mesto proksimalne anastomoze				
1. Ascendentna aorta	27 (100%)	30 (96.7%)	25 (100)	0.9
2. Drugi graftovi	0 (0%)	1 (3.2%)	0 (0%)	
Sekvencijalni graftovi	2 (7.4%)	0 (0%)	1 (4%)	0.32
Trajanje aortne kleme (min)	55.5±16.6	60.4±17.9	57.3±15.3	0.53
Trajanje EKC (min)	90.4±26.8	99.8±28.6	95.8±20.9	0.39
Trajanje operacije (min)	194.1±34.8	199.3±47.9	253.2±37.5	<0.001
Vrsta kardioplegije				0.001
1. Kristaloidna	26 (96.3%)	22 (71%)	13 (52%)	
2. Krvna	1 (3.7%)	9 (29%)	12 (48%)	
Inotropna potpora	9 (33.3%)	12 (38.7%)	12 (48%)	0.35
1. Adrenalin	4 (44.4%)	5 (41.6%)	9 (75%)	
2. Dobutamin	0	0	1 (8.3%)	
3. Noradrenalin	5 (55.5%)	7 (58.3%)	2 (16.6%)	
IABP	0	0	0	1

Skraćenice: EKC – ekstrakorporalna cirkulacija; IABP – intraaortalna balon pumpa; VSV – velika safenska vena

Parametri ranog postoperativnog perioda nisu se značajno razlikovali između analiziranih grupa. Dužina trajanja mehaničke ventilacije bila je statistički kraća u grupi sa endoskopski pripremljenom venom (*Mann Whitney test*, $p=0.05$). Nije bilo razlike u dužini boravka u intenzivnoj nezi ali je grupa sa no-touch venom imala statistički duži boravak u bolnici u odnosu na ostale dve grupe (*Mann Whitney test*, $p=0.05$). Vrednosti torakalne drenaže i revizija zbog krvarenja nisu pokazale odstupanje između poredbenih grupa. Laboratorijske analize kardiospecifičnih enzima u ranom postoperativnom periodu nisu pokazale značajnu razliku između analiziranih grupa.

Ostali postoperativni i laboratorijski parametri su prikazani u tabeli 6 i 7.

Tabela 6. Potoperativne karakteristike ispitivanih grupa

Postoperativne karakteristike	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska grupa N(25)	P vrednost
Torakalna drenaža unutar 6 sati	150 (IQR 100-300)	150 (IQR 100-250)	200(IQR 100-275)	0.65
Torakalna drenaža unutar 24 sata	300(IQR 250-500)	400(IQR 300-600)	400 (IQR 275-500)	0.65
Revizija zbog krvarenja	1 (3.7%)	1 (3.22%)	0	0.64
Mehanička ventilacija (sati)	11 (IQR 9-13)	12 (IQR 9-13)	9 (IQR 8-11,5)	0.05
Reintubacija	0	0	0	1
EKG				
1. Normalan	25 (92.5%)	29 (93.5%)	24 (96%)	0.7
2. ST elevacija	2 (7.4%)	1 (3.2%)	1 (4%)	
3. ST depresija	0	0	0	
4. T inverzija	0	1 (3.2%)	0	
Postoperativna EF (%)	47.9±9.3	49.8±9.2	41±12.2	0.006 (T test)
Boravak u intenzivnoj nezi (dani)	1 (IQR 1-2)	1 (IQR 1-2)	1 (IQR 1-2)	0.9
Boravak u bolnici (dani)	6 (IQR 5-7)	7 (IQR 7 -8)	6 (IQR 5-8)	0.05
Mortalitet	0 (0%)	1 (3.2%)	0 (0%)	0.43

Tabela 7. Postoperativne laboratorijske analize ispitivanih grupa

Laboratorijske analize	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska grupa N(25)	P vrednost
Traneksamična kiselina	27 (100%)	31 (100%)	25 (100%)	1
Preoperativni hs Troponin	7.75(IQR3.8-23.6)	7.3 (IQR 3.18 - 14.3)	9.9 (IQR 5.6 - 15.25)	0.45
hs Troponin 2 sata nakon procedure	2164.8 (IQR1437.5-4605.6)	2765 (IQR 1976.3 -4662.2)	3100 (IQR 2907.3 -4717)	0.4
hs Troponin 6 sati nakon procedure	4128.7 (IQR 2585.9 -5985.6)	3864 (IQR 2525.3-5494.3)	3890 (IQR 2530.8 – 5988.8)	0.9
CK 6 sati nakon procedure	374 (IQR 325-466)	334 (IQR 291 - 570)	398 (IQR 348 - 593.5)	0.32
CK 24 sata nakon procedure	438 (IQR 347-615.5)	398 (IQR 302 - 553)	555.5 (IQR 357.2 -917.5)	0.2
CK-MB 6 sati nakon procedure	35.9 (IQR27.5-47.2)	27.5 (IQR 25.4 -46)	34.3 (IQR 26.4 – 45.7)	0.24

Skraćenice: CK – kreatin kinaza

Istraživanje nije registrovalo statističku razliku unutar grupa u postoperativni neželjenim događajima što je pokazano u tabeli 8.

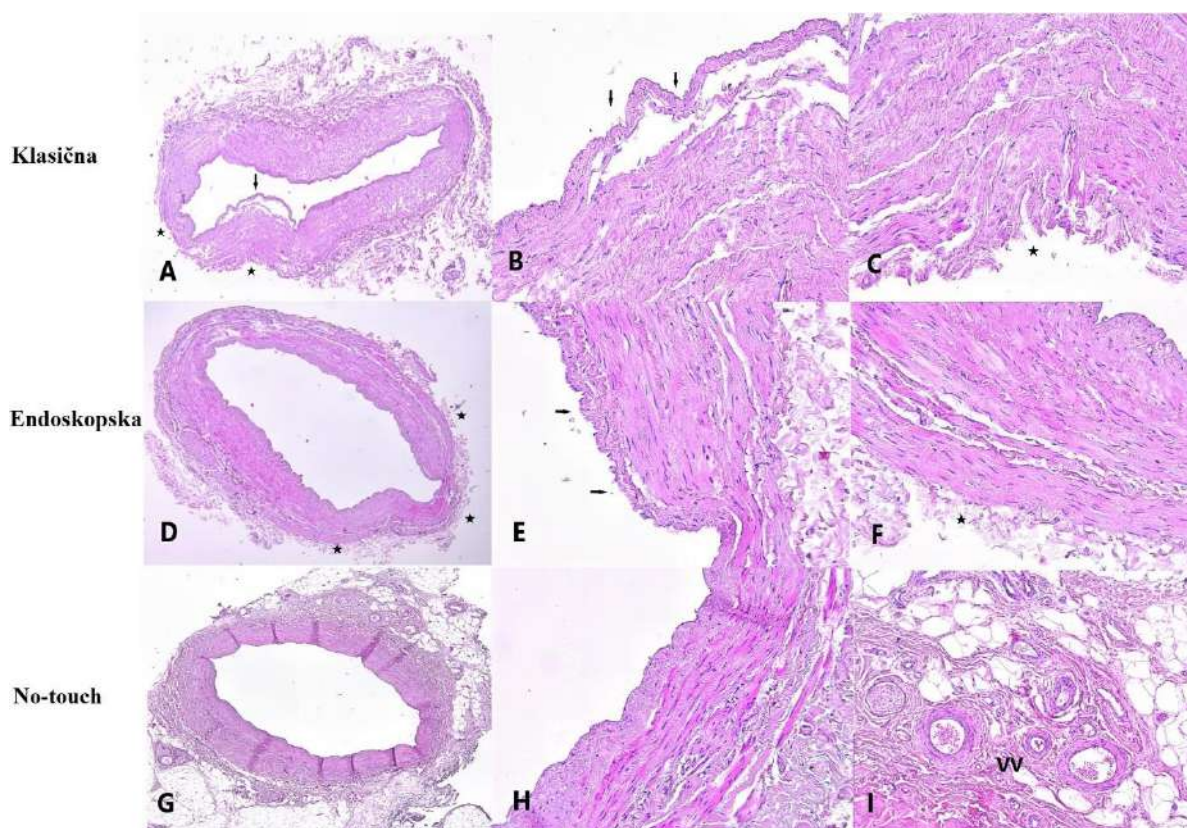
Tabela 8. Rani postoperativni neželjeni događaji

Postoperativni neželjeni događaji	Klasična grupa N (27)	No-touch grupa N (31)	Endoskopska grupa N (25)	P vrednost
Postoperativni IM	0 (0%)	1 (3.22%)	1 (4%)	0.6
Postoperativni Šlog	1 (3.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0.35
Dezorjentacija	1 (3.7%)	6 (19.3%)	2 (8%)	0.14
Postoperativna AF	6 (22.2%)	8 (25.8%)	5 (20%)	0.83
Perikardni izliv	1 (3.7%)	1 (3.22%)	0 (0%)	0.63
Pleuralni izliv	0 (0%)	2 (6.4%)	1 (4%)	0.41

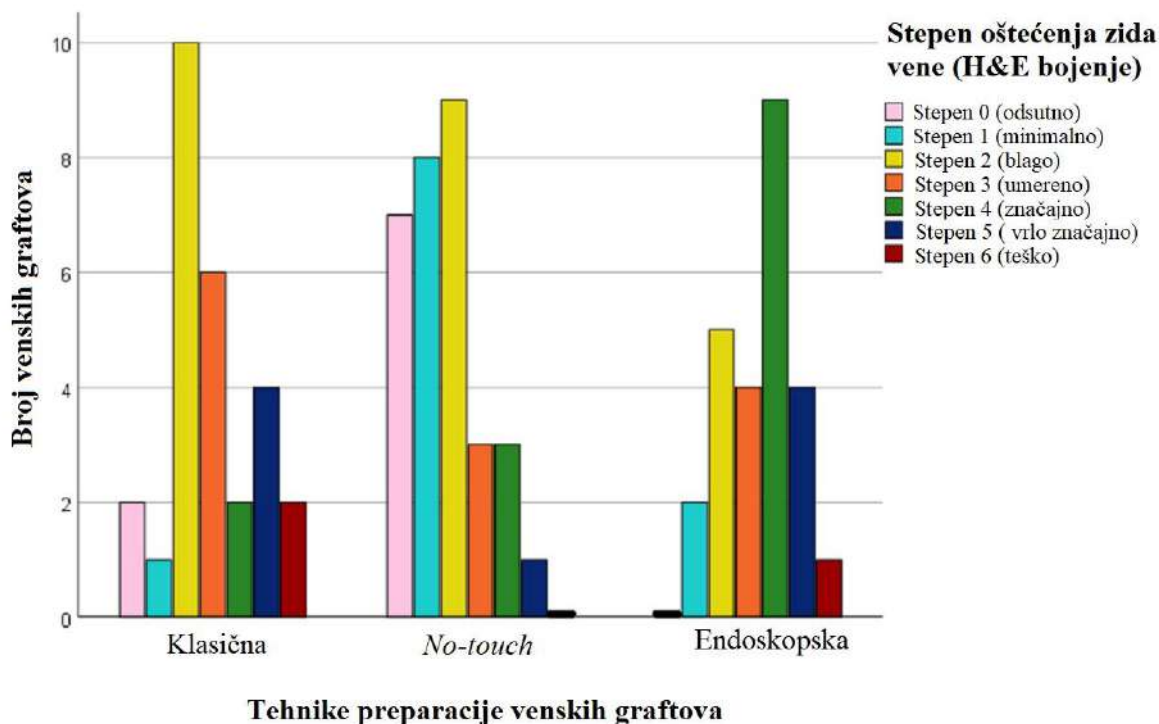
Skraćenice: AF – atrijalna fibrilacija; IM – infarkt miokarda

4.2. Rezultati histološke analize

Hematoxilin-eozin bojenje je detektovalo oštećenja sva tri sloja zida venskih graftova prikazanih na slici 27. Statističkom obradom podataka detektovan je značajno manji stepen oštećenja zida venskog grafta u no-touch grupi (2(IQR 1-2)) u poređenju sa grupom u kojoj je vena pripremana klasičnom (3(IQR 2-4)) i endoskopskom tehnikom (4(IQR2-4)) (*Mann Whitney test* $p < 0,001$) Grafikon 1. U ukupno 25 (30.1%) od ukupnog broja uzorka vena, detektovan je oblik intimalne hiperplazije i subendotelnog edema. Ove promene nisu bile povezane sa preoperativnim karakteristikama pacijenata (pol, starost, telesna težina i visina, dijabetes melitus). Oštećenje adventicije je bilo značajno veće u endoskopskoj i klasičnoj grupi u odnosu na no-touch grupu (*Hi-kvadrat test*, $p < 0,001$). Nije bilo registrovanih uzoraka sa difuznim adventicijalnim oštećenjem u no-touch grupi. Oštećene vasa vasorum je bilo intenzivnije u endoskopskoj i klasičnoj grupi u poređenju sa no-touch tehnikom (*Hi-kvadrat test*, $p = 0,009$). Ostale histološke karakteristike preparata obojenih hematoxilin-eozin prikazani su u tabeli 9.



Slika 27. Histološka analiza uzoraka vena pripremanih različitim tehnikama pokazuje odvajanje endotela (strelica) i fokalno oštećenje adventicije sa fokalnim odsustvom vaza vazorum (zvezdica) u klasičnoj grupi (A – H&E x40, B – H&E x200, C H&E x200). Fokalni defekti endotela (strelica) i adventicije sa fokalnim odsustvom vaza vazorum (zvezdica) u endoskopskoj grupi (D – H&E x40, E – H&E x200, F – H&E x200). Očuvane mikrostrukture zida vene, adventicije i vaza vazorum u No-touch grupi (G – H&E x40, H – H&E x200, I – H&E x200).



Grafikon 1. Distribucija prema stepenu oštećenja graftova pripremanih različitim tehnikama (Hematoksilin-eozin bojenje)

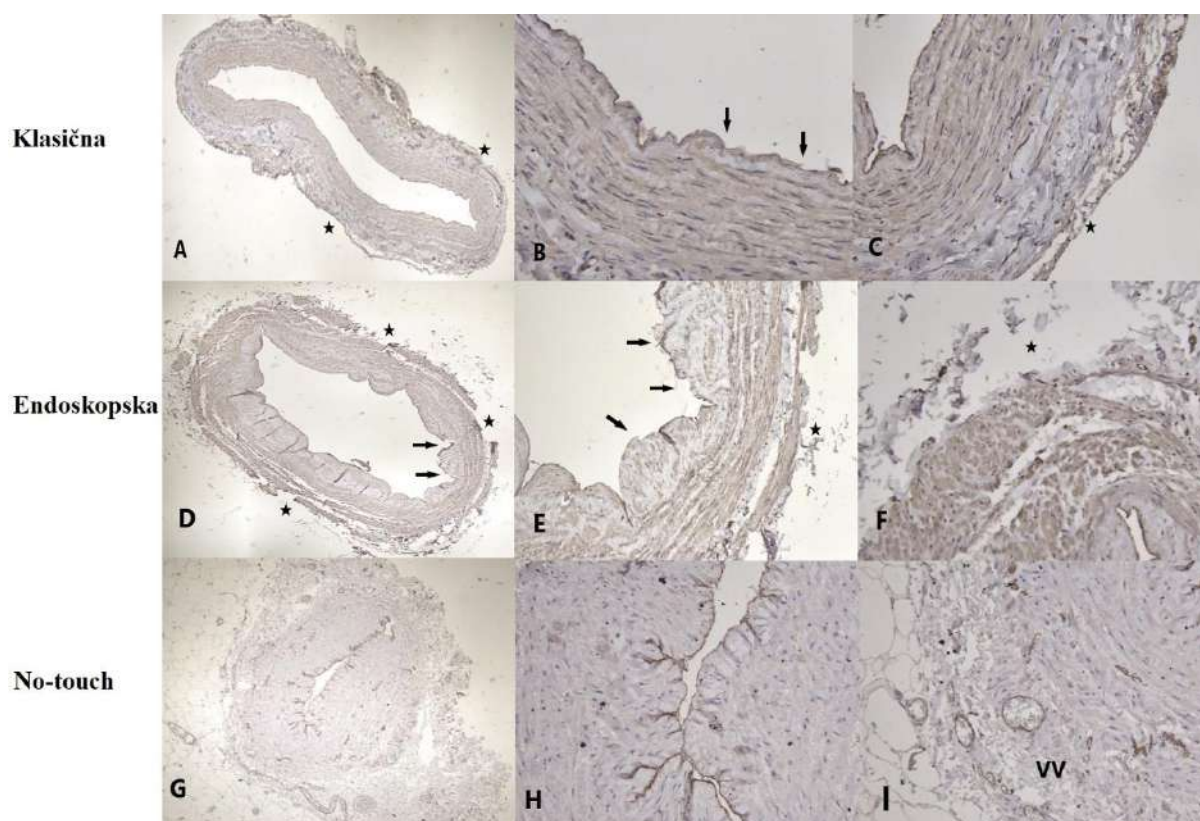
Tabela 9. Imunohistohemijska analiza stepena oštećenja zida venskih uzoraka primenom tri različite hirurške tehnike (bojenje Hematoksilin-eozin)

Hematoksilin-Eozin bojenje	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska grupa N(25)	P vrednsot
Stepen oštećenja zida vene	3 (IQR 2-4)	2 (IQR 1-2)	4 (IQR 2-4)	<0.001
Oštećenje endotela vene	7 (25.9%)	8 (25.8%)	7 (28%)	0.98
Oštećenje medije vene	5 (18.5%)	7 (22.5%)	4 (16%)	0.8
Intimalni edem	5 (18.5%)	10 (32.25%)	10 (40%)	0.23

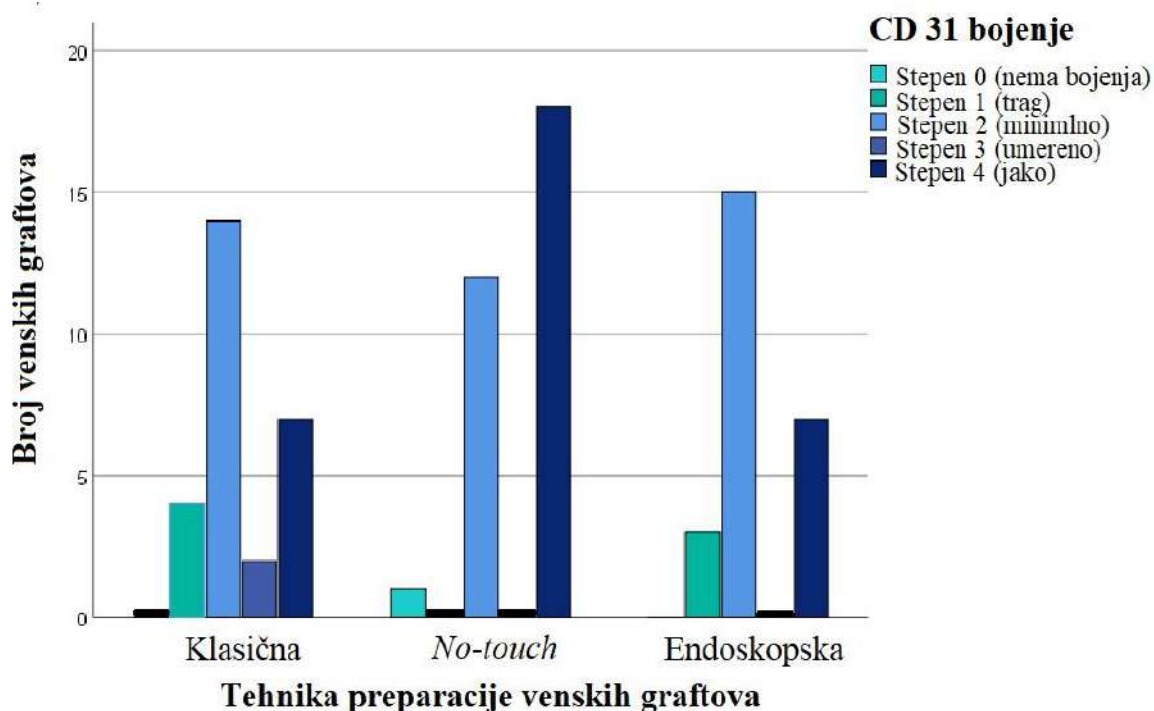
Oštećenje adventicije (0 -ne, 1- lokalno, 2 – difuzno)	7 (25.9%) 14 (51.8%) 6 (22.2%)	25 (80.6%) 6 (19.3%) 0 (0%)	5 (20%) 15 (60%) 5 (20%)	<0.001
Oštećenje vaza vasorum	6 (22.2%)	0 (0%)	7 (28%)	0.009

4.3. Rezultati imunohistohemijskog istraživanja

Imunohistohemijsko bojenje CD31 antitelom detektovalo je oštećenja unutar sva tri sloja zida krvnog suda prikazana na slici 28. CD31 antitelo je pokazalo znatno viši stepen prebojavanja (što predstavlja mali stepen oštećenja) uzoraka u no-touch grupi (4(IQR2-4)) u odnosu na stepen u konvencionalnoj i endoskopskoj grupi koja je pokazala isti stepen (2(IQR 2-4)) (*Mann Whitney test*, $p=0.02$) (Grafikon 2). Nije bilo statističke razlike oštećenja između konvencionalne i endoskopske grupe. Procenom endotelnog bojenja koje ukazuje na oštećenje istog utvrđeno je da je očuvanost endotelnih ćelija statistički veća u grupi no-touch pripremljene vene u odnosu na ostale dve grupe (*Hi-kvadrat test*, $p=0.03$). Isto antitelo je pokazalo bolju očuvanost adventicijalnog sloja i vaze vasorum u no-touch grupi (*Hi kvadrat test*, $p=0.06$, $p=0.09$, redom). Ostali rezultati CD31 bojenja prikazani su u tabeli 10.



Slika 28. Imunohistohemijsko bojenje antitelom CD31 pokazalo je lokalno blago bojenje endotela (strelica) i odsustvo bojenja vaza vazorum i adventicije (zvezdica) u klasičnoj grupi (A – CD31 x40, B - CD31 x200, C – CD31 x200), fokalno minimalno bojenje endotela (strelica), defekte adventicije i odsustvo vaza vazorum (zvezdica) u endoskopskoj grupi uzoraka (D – CD31 x40, E – CD31 x100, F – CD31 x200) i jako bojenje (braon boja) endotela, adventicije i vaza vazorum unutar uzoraka no-touch grupe (G – CD31 x40, H – CD31 x200, I – CD31 x200)



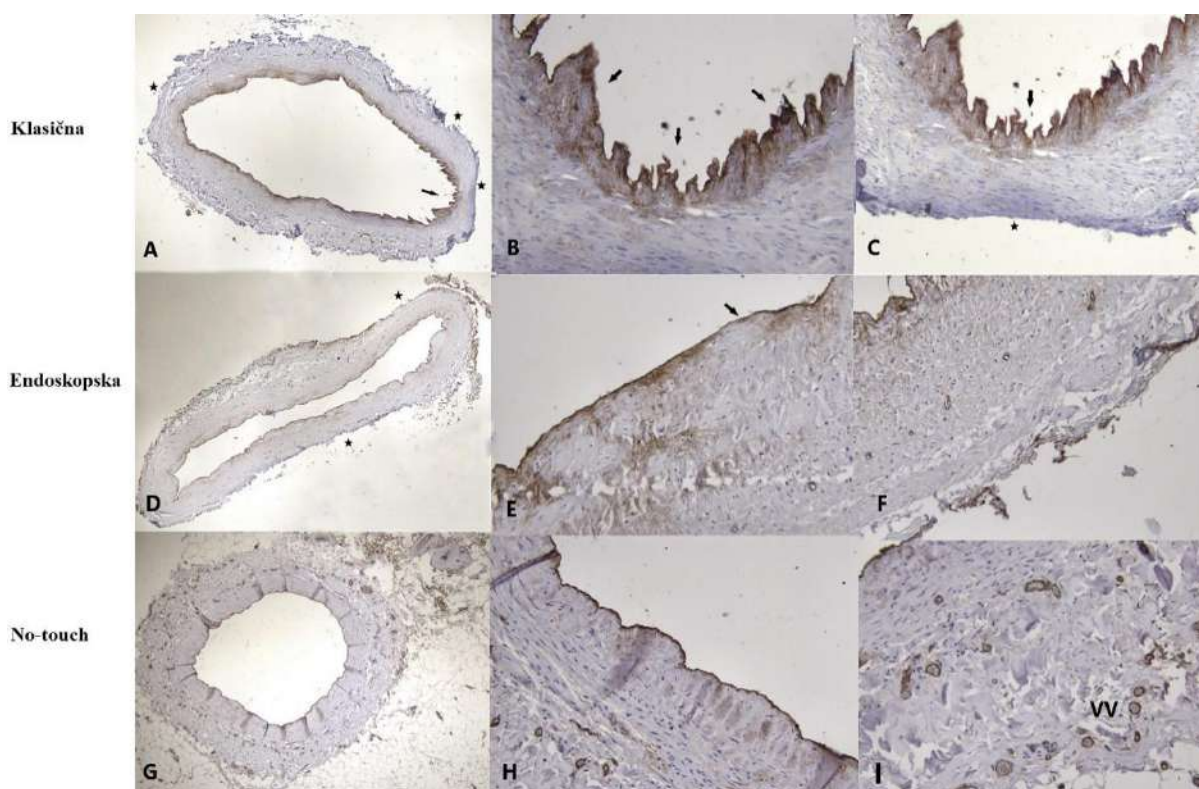
Grafikon 2. Distribucija oštećenja venskih graftova po grupama (*Imunohistohemijsko bojenje antitelom CD31*)

Tabela 10. Imunohistohemijska analiza stepena oštećenja zida venskih uzoraka primenom tri različite hirurške tehnike (*bojenje CD31 antitelom*)

Bojenje antitelom CD31	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska grupa N(25)	P vrednost
Stepen bojenja	2 (IQR 2-4)	4 (IQR 2 -4)	2 (IQR 2-4)	0.02
Oštećenje endotela vene (0 – ne, 1-lokalno, 2 – difuzno)	6 (22.2%) 17 (62.96%) 4 (14.8%)	16 (51.6%) 8 (25.8%) 6 (19.3%)	7 (28%) 16 (64%) 2 (8%)	0.03
Oštećenje medije vene	2 (7.4%)	1 (3.22%)	1 (4%)	0.75

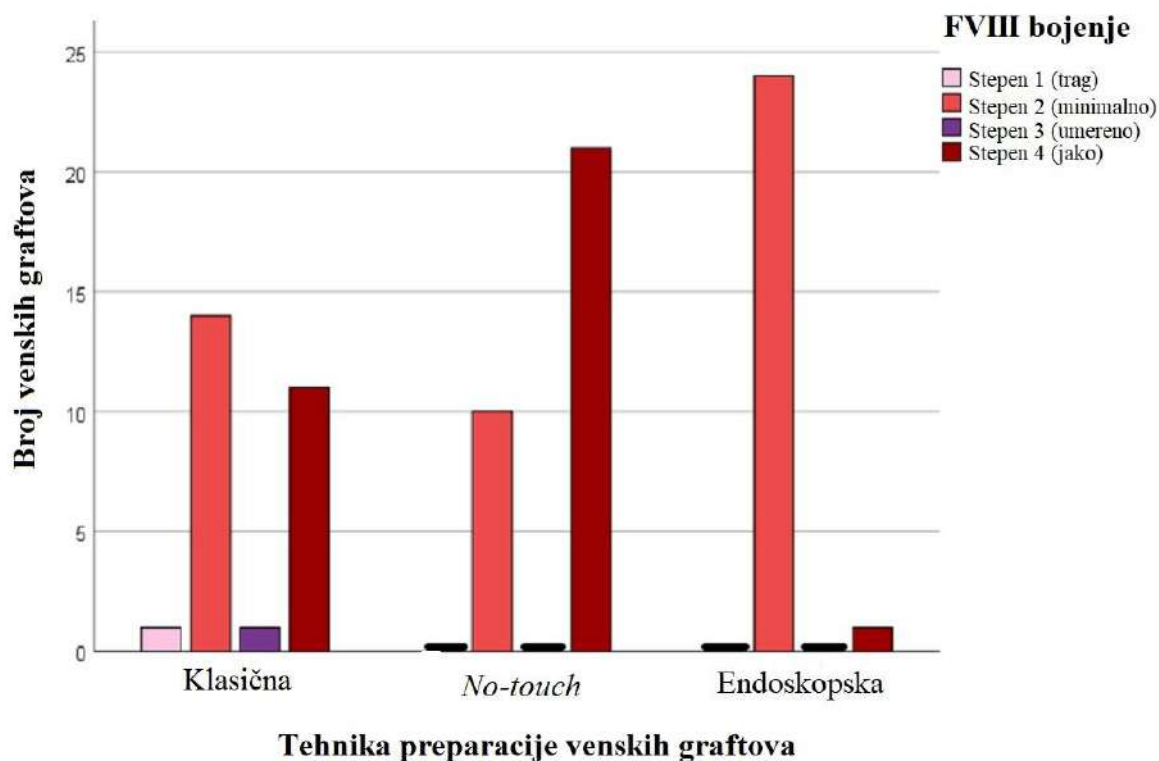
Oštećenje adventicije vene (0 – ne, 1- lokalno, 2 – difuzno)	19 (70.3%) 7 (25.9%) 1 (3.7%)	30 (96.77%) 1 (3.22%) 0 (0%)	22 (88%) 2 (8%) 1 (4%)	0.06
Oštećenje vaza vazorum	4 (14.8%)	0 (0%)	3 (12%)	0.09

Imunohistohemijsko bojenje Faktorom VIII otkrilo različite stepene oštećenje zida venskih uzoraka u različitim ispitivanim grupama što se može videti na slici 29.



Slika 29. Imunohistohemijsko bojenje primenom Faktor VIII antitela pokazuje jako bojenje (braon bojom) lokalno oštećenog endotela (strelica) i odsustvo vaza vazorum u adventicijalnom sloju (zvezdica) uzoraka vene pripremane klasičnom tehnikom (A – Faktor VIII x40, B – Faktor VIII x200, C – Faktor VIII x100), fokalno umereno bojenje endotela (strelica), defekt adventicijalnog sloja i odsustvo vaza vazorum (zvezdica) kod uzoraka vene pripremanih endoskopskom tehnikom (D – Faktor VIII x40, E – Faktor VIII x200, F – Faktor VIII x200) i jako bojenje (braon boja) endotelne slojeve i vaza vazorum u adventiciji venskih uzoraka pripremanih No-touch tehnikom (G – Faktor VIII x40, H – Faktor VIII x200, I – Faktor VIII x200).

Bolja očuvanost venskog zida (endotela, medije i adventicije) registrovana je u grupi *no-touch* pripremane vene u odnosu na ostale dve (*Hi-kvadrat test*, $p < 0.001$) što je prikazano grafički na Grafikonu 3.



Grafikon 3. Distribucija oštećenja venskih graftova po grupama (*Imunohistohemijsko bojenje antitelom Faktor VIII*)

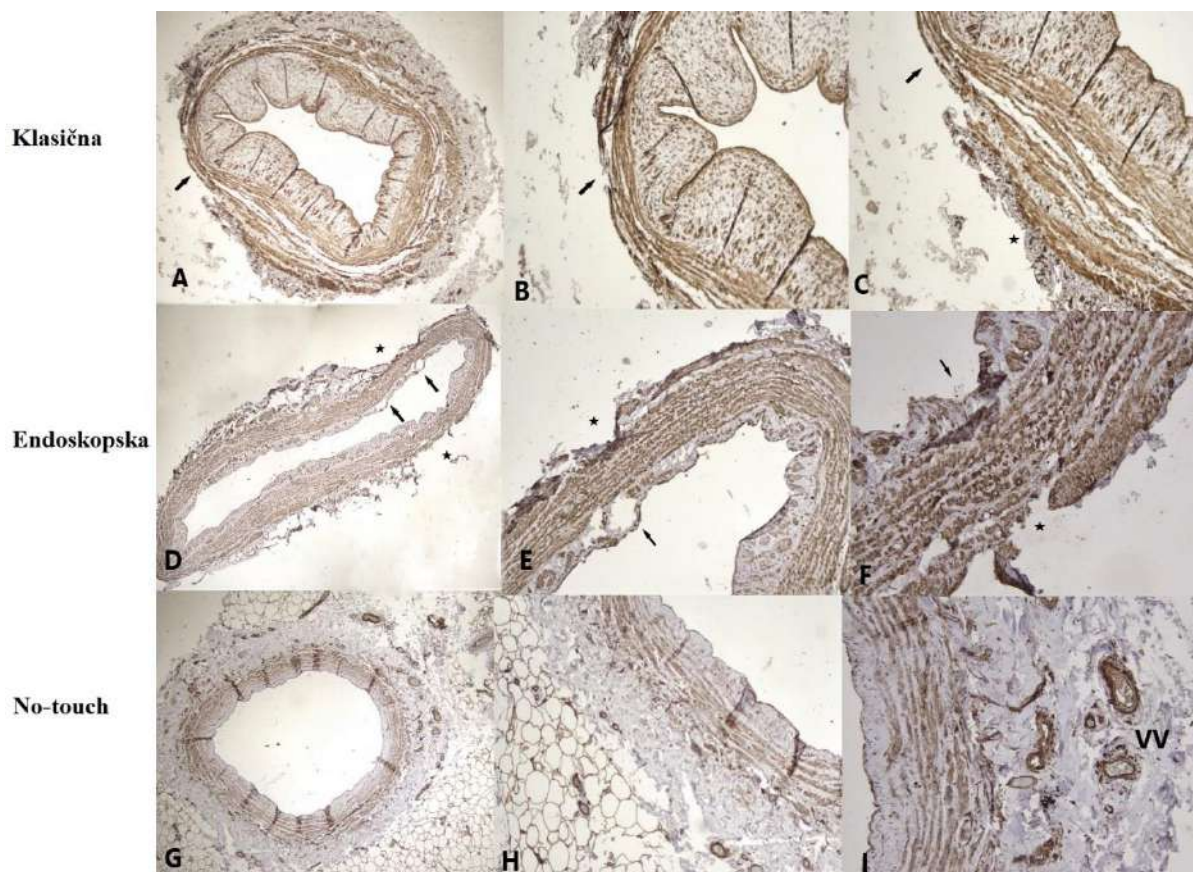
Oštećenje endotelnog sloja bilo je statistički manje izraženo u *no-touch* grupi (*Hi-kvadrat test* $p = 0.038$). Ostali parametri imunohistohemijskog bojenja faktorom VIII prikazani su u tabela 11.

Tabela 11. Imunohistohemijska analiza stepena oštećenja zida venskih uzoraka primenom tri različite hirurške tehnike (bojenje Faktor VIII antitelom)

Bojenje antitelom Faktor VIII	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska grupa group N(25)	P vrednost
Stepen bojenja	2 (IQR 2-4)	4 (IQR 2-4)	2 (IQR 2-2)	<0.001
Oštećenje endotela vene (0- ne, 1-lokalno, 2 – difuzno)	27 (100%) 0 0	30 (96.7%) 1 (3.22%)	21 (84%) 4 (16%)	0.038
Oštećenje medije vene	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	

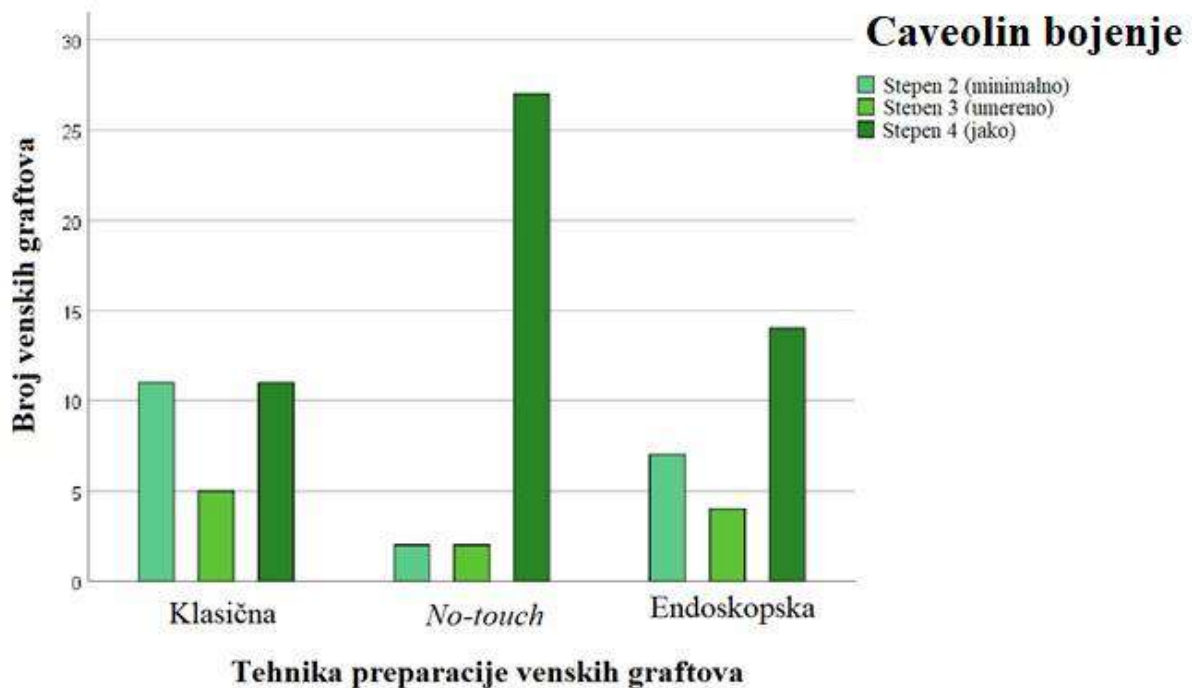
Oštećenje adventicije vene (0 -ne, 1- lokalno, 2 – difuzno)	26 (96.29%) 1 (3.7%)	31 (100%)	25 (100%)	0.35
Oštećenje vaza vazorum	1 (3.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0.35

Caveolin monoklonsko antitelo je detektovalo različite stepene oštećenja slojeva venskog zida (endotela, adventicije i nutritivnih krvnih sudova vasa vasorum) uzoraka, slika 30.



Slika 30. Imunohistohemijско bojenje antitelom Caveolin u sve tri grupe uzoraka (klasična, no-touch i endoskopska) pokazalo je jako bojenje (braon boja) intime i medije. Registrovano je lokalno oštećenje središnjeg mišićnog sloja (sterlica) i adventicijalnog sloja (zvezdica) u klasičnoj grupi uzoraka (A – Caveolin x40, B – Caveolin x100, C – Caveolin x200), fokalni defekti endotela (strelica) i adventicijalnog sloja (zvezdica) u endoskopskoj grupi uzoraka (D – Caveolin x40, E – Caveolin x100, F – Caveolin x200) i kompletno očuvan zid vene sa vaza vazorum unutar adventicijalnog sloja u no-touch grupi uzoraka (G – Caveolin x40, H – Caveolin x100, I – Caveolin x200)

Najveći stepen oštećenja zida venskih graftova registrovan je u klasičnoj grupi 3 (IQR 2-4), ($p=0,001$), dok je u ostale dve grupe stepen oštećenja statistički neznačajan no-touch i endoskopska grupa 4 (IQR 4-4) i 4 (IQR 2-4) redom (Grafikon 4). Oštećenje medije je Caveolin antitelom bilo najviše detektovano u klasičnoj grupi (*Hi- kvadrat test*, $p=0.007$). Vasa vasorum je bila najočuvanija u no-touch grupi (*Hi-kvadrat test*, $p=0.09$). Ostale karakteristike bojenja ovim antitelom su predstavljene u tabeli 12.



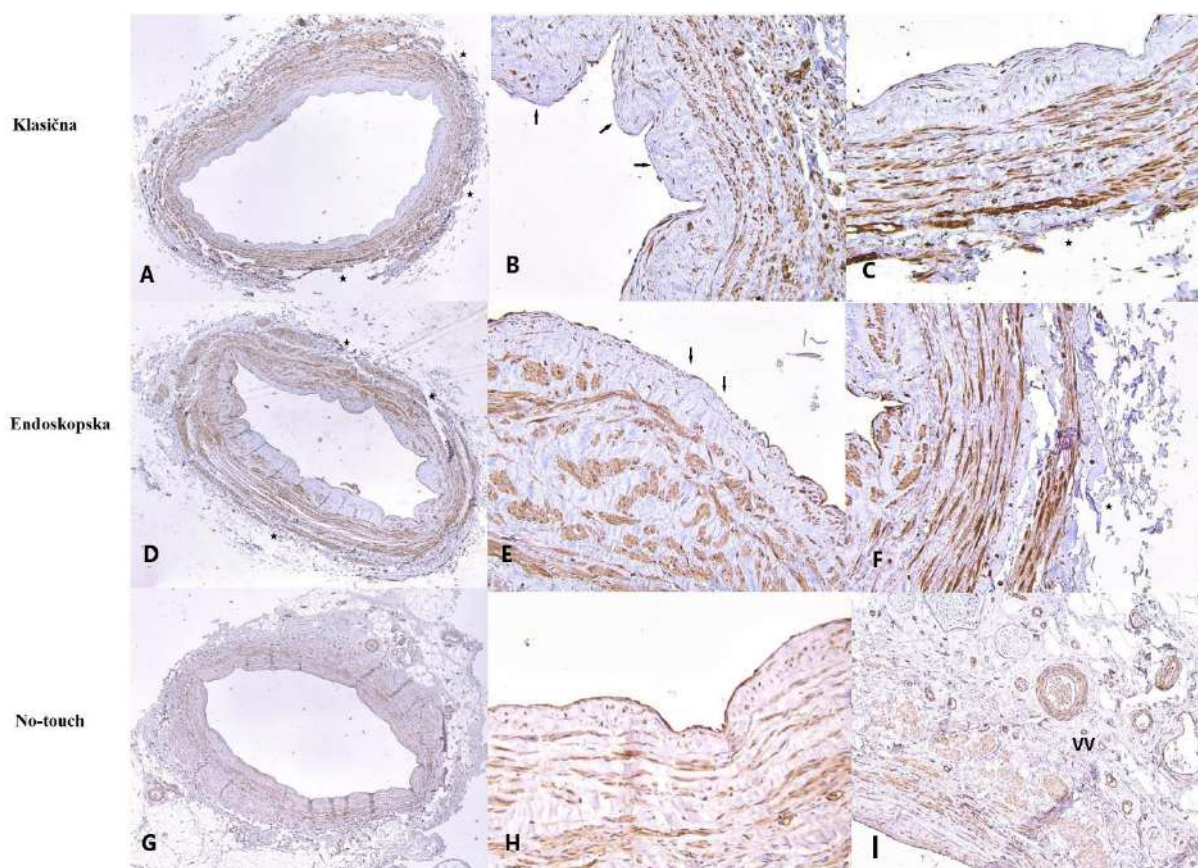
Grafikon 4. Distribucija oštećenja venskih graftova po grupama (*Imunohistohemijsko bojenje antitelom Caveolin*)

Tabela 12. Imunohistohemijska analiza stepena oštećenja zida venskih uzoraka primenom tri različite hirurške tehnike (bojenje Caveolin antitelom)

Bojenje antitelom Caveolin	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska grupa N(25)	P vrednost
Stepen bojenja	3 (IQR 2-4)	4 (IQR 4-4)	4 (IQR 2-4)	0.001
Oštećenje endotela vene (0 -ne, 1-lokalno, 2 – difuzno)	14 (51.8%) 10 (37%) 3 (11.1%)	22 (70.9%) 8 (25.8%) 1 (3.22%)	12 (48%) 13 (52%) 0 (0%)	0.01
Oštećenje medije vene	7 (25.9%)	2 (6.4%)	0 (0%)	0.007

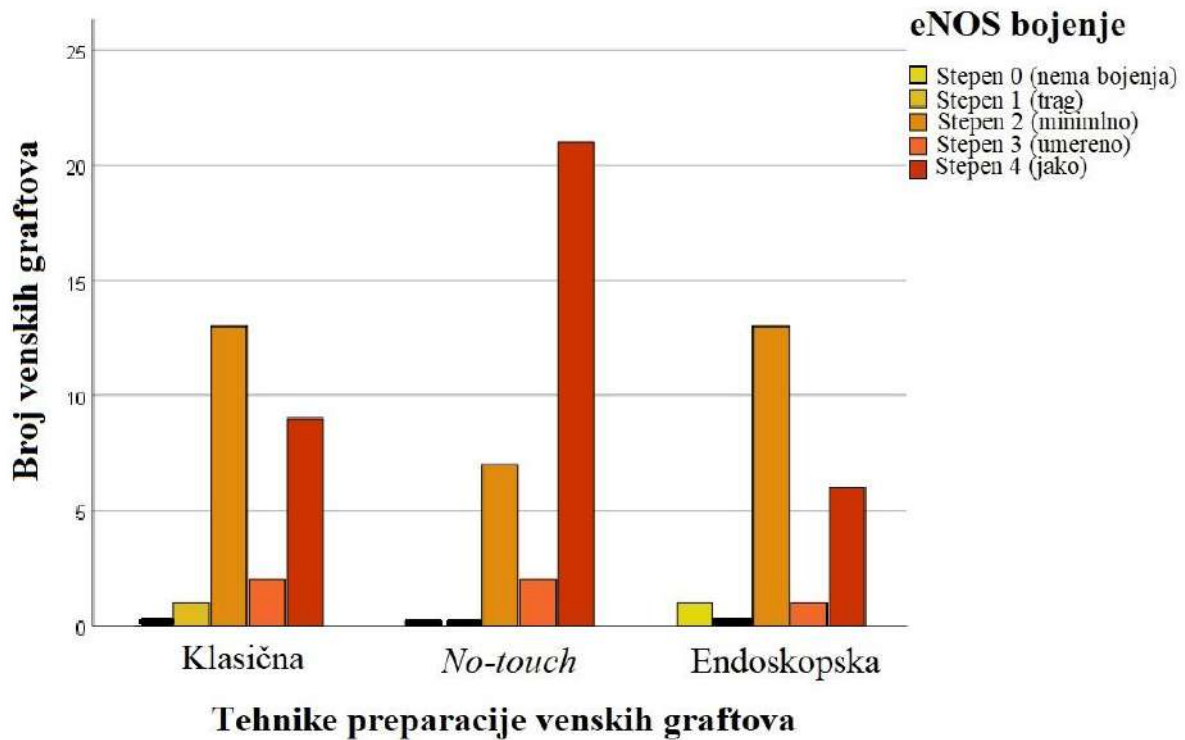
Oštećenje adventicije vene (0 - ne, 1- lokalno, 2 - difuzno)	24 (88.8%) 2 (7.4%) 1 (3.7%)	31 (100%) 0 (0%) 0 (0%)	23 (92%) 0 (0%) 2 (8%)	0.15
Oštećenje vaza vazorum	4 (14.8%)	0 (0%)	3 (12%)	0.09

Imunohistohemijsko bojenje endotelnom nitro-oxid sintazom registrovalo je defekte endotela u vidu ovajanja od unutrašnje elastične lamine, takođe je bojenje detektovalo raslojavanje medijalnog sloja i oštećenje adventicije sa nutritivnom mrežom krvnih sudova. Ove promene prikazane su na slici 31.



Slika 31. Imunohistohemijsko bojenje eNOS antitelom pokazalo je minimalno bojenje endotela (strelica) i odsustvo vaza vazorum u adventicijalnom sloju (zvezdica) u grupi uzoraka vene koja je pripremana klasičnom metodom (A – eNOS x40, B – eNOS x200, C – eNOS x200), minimalno bojenje endotela (strelica), fokalni defekti adventicijalnog sloja sa vaza vazorum (zvezdica) u endoskopskoj grupi (D – eNOS x40, E – eNos x200, F – eNOS x200), i jako bojenje endotela i vaza vazorum unutar adventicije u grupi No-touch venskih uzoraka (G – eNOS x40, H – eNOS x200, I – eNOS x200).

Bojenje antitelom eNOS je pokazalo da je najočuvaniji zid venskih graftova pripremljenih no-touch tehnikom 4 (IQR 2.7-4), (*Mann Whitney test*, $p=0,003$) (Grafikon 5). Endotelni sloj vene je bio najočuvaniji u no-touch grupi ispitanika (*Hi-kvadrat test*, $p=0.015$), takođe je u istoj grupi očuvanost adventicije i vaze vazorum (*Hi-kvadrat test*, $p=0.07$, $p=0.02$, redom). Ostale karakteristike bojenja ovim antitelom su prikazane u tabeli 13.



Grafikon 4. Distribucija oštećenja venskih graftova po grupama (*Imunohistohemijsko bojenje antitelom eNOS*)

Tabela 13. Imunohistohemijska analiza stepena oštećenja zida venskih uzoraka primenom tri različite hirurške tehnike (bojenje eNOS antitelom)

Bojenje antitelom eNOS	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska vena N(25)	P vrednost
Stepen bojenja	2 (IQR 2-4)	4 (IQR 2.7-4)	2 (IQR 2-2)	0.003
Oštećenje endotela vene (0 – ne, 1-lokalno, 2 – difuzno)	9 (33.3%) 9 (33.3%) 4 (14.8%)	15 (48.4%) 4 (12.9%) 2 (6.45%)	3 (12%) 9 (36%) 6 (24%)	0.015
Oštećenje medije vene	1 (3.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0.4
Oštećenje adventicije vene (0 – ne, 1- lokalno, 2 – difuzno)	11 (40.7%) 8 (29.6%) 3 (11.1%)	19 (61.3%) 2 (6.45%) 0 (0%)	11 (44%) 5 (20%) 2 (8%)	0.07

Oštećenje vaza vazorum	6 (22.2%)	0 (0%)	6 (24%)	0.02
------------------------	-----------	--------	---------	-------------

4.4 Postoperativni kardiovaskularni i cerebrovaskularni neželjeni događaji tokom boravka u bolnici

Jedan od sekundarnih ciljeva istraživanja bio je i praćenje i analiziranje velikih neželjenih srčanih, vaskularnih i moždanih događaja (perioperativni infarkt miokarda, zahtev za ponovnom revaskularizacijom ili rekonarografijom, cerebrovaskularni događaji, smrtnog ishoda). Po jedan bolesnik iz grupe no-touch (3,22%) i endoskopski (4%) pripremljenih graftova je imao perioperativni infarkt miokarda na osnovu jasnih kriterijuma. Prolazna dezorjentacija i oslabljenost kongnitivnih funkcija je registrovana u oko 9.6% bolesnika, a najviše u grupi no-touch pripremane vene (19,3%) bez statističke značajnosti u odnosu na ostale grupe. Postoperativna atrijska fibrilacija je zabeležena u 22,8% bolesnika, što je bila najzastupljenija u no touch grupi (25.5%). Šlog je dijagnostikovao kod jednog bolesnika (3.7%) u klasičnoj grupi. Šlog je bio po tipu neonesposobljavajućeg te je pacijent do otpusta kući pokazao značajni oporavak motorne funkcije ruke i noge. Ostali rani postoperativni događaji su predstavljeni u tabeli 14.

Tabela 14. Rani postoperativni neželjeni događaji

Postoperativni neželjeni događaji	Klasična vena N (27)	No-touch grupa N (31)	Endoskopska grupa N (25)	P vrednost
Postoperativni IM	0 (0%)	1 (3.22%)	1 (4%)	0.6
Postoperativni Šlog	1 (3.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0.35
Dezorjentacija	1 (3.7%)	6 (19.3%)	2 (8%)	0.14
Postoperativna AF	6 (22.2%)	8 (25.8%)	5 (20%)	0.83
Perikardni izliv	1 (3.7%)	1 (3.22%)	0 (0%)	0.63
Pleuralni izliv	0 (0%)	2 (6.4%)	1 (4%)	0.41

Komplikacije hirurških rana tokom boravka u bolnici

Dva bolesnika (7,4%) iz grupe klasično pripremljene vene su imali površinsku infekciju grudne rane (p=0.12). Medijastinitis nije zabeležen ni u jednom slučaju. Infekcije rane na nogama su

registrovane u prvoj i drugoj grupi i to u svakoj po tri bolesnika (11,1%) i (9,7%) ($p=0,23$). U endoskopskoj grupi nije zabeležena dehiscencija rane na nozi, dok je u klasičnoj 4 bolesnika (14,8%) a u no-touch kod 6 (19,3%) bolesnika imalo neki oblik dehiscencije rane ($p=0,07$). Serozna drenaža iz rane na nozi je bila statistički manje zastupljena u endoskopskoj grupi u odnosu na ostale dve ($p=0,07$). Značajna razlika je zabeležena i kod pojave otoka noge sa koje je vena uzeta. Prve dve grupe su imale statistički veću učestalost otoka nogu (*Hi-kvadrat test*, $p=0,03$). Iako je bila veća učestalost bola na mestu preparacije u prve dve grupe u odnosu na endoskopsku grupu, nije bilo statističke znančnosti ($p=0,12$). Nasuprot tome parestezije noge su bile manje zastupljene u grupi endoskopski pripremane vene (*Hi-kvadrat test*, $p=0,01$). Ostale karakteristike prikazane su u tabeli 15.

Tabela 15. Komplikacije hirurgijskih rana tokom boravka u bolnici

Komplikacije hirurgijskih rana tokom bolničkog boravka	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska grupa N(25)	P vrednost
Površinska infekcija grudne rane	2 (7.4%)	0 (0%)	0 (0%)	0.12
Medijastinitis	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0
Infekcija rane na nozi	3 (11.1%)	3 (9.7%)	0 (0%)	0.23
Dehiscencija rane na nozi	4 (14.8%)	6 (19.3%)	0 (0%)	0.07
Ivična nekroza rane na nozi	3 (11.1%)	4 (12.9%)	0 (0%)	0.18
Limforeja rane na nozi	0 (0%)	3 (9.7%)	0 (0%)	0.07
Otok noge	10 (37%)	10 (32.2%)	0 (0%)	0.03
Bol na mestu preparacije vene	8 (29.6%)	8 (25.8%)	2 (8%)	0.12
Utrnulost na mestu preparacije vene	8 (29.6%)	11 (35.5%)	1 (4%)	0.01

Period praćenja do 30 dana

Veliki kardiovaskularni i cerebrovaskularni događaji nisu registrovani u ovom periodu praćenja. Kod jednog bolesnika (3,7%) iz klasične grupe je zabeležena površinska infekcija preternalne rane. Medijastinalna infekcija nije registrovana. Po tri bolesnika iz klasične

(11,1%) i no-touch (9,67%) grupe su imali površinsku infekciju rana, bez statističke značajnosti između grupa ($p=0,23$). Statistički značajna razlika registrovana je u dehiscencijama koje su bile najzastupljenije u no-touch grupi gde je 7 bolesnika (22,5%) imalo neki oblik dehiscencije (*Hi-kvadrat test*, $p=0,04$). Serozna drenaža iz rane na nozi je bila znatno više izražena u no-touch grupi, ali bez dostignute statističke značajnosti (*Hi-kvadrat test*, $p=0,07$). Edem i bol noge na kojoj je uzeta vena statistički je manje bila zastupljena u grupi endoskopski pripremane vene (*Hi-kvadrat test*, $p=0,04$ i $p=0,09$, redom). Ostale karakteristike 30 - dnevnog perioda praćenja su prikazani su u tabeli 16.

Tabela 16. Neželjeni događaji nakon 30 dana od perativnog lečenja

Tridesetodnevni period praćenja	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska grupa N(25)	P vrednost
Mortalitet				1
1. Kardiovaskularni	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
2. Ostali	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Hospitalizacije	1 (3.7%)	2 (6.4%)	1 (4%)	0.86
Angina pectoris	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
Infarkt miokarda	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
Šlog	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
Površinska infekcija presteralne rane	1 (3.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0.33
Medijastinitis	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
Infekcija rane na nozi	3 (11.1%)	3 (9.67%)	0 (0%)	0.23
Dehiscencija rane na nozi	4 (14.8%)	7 (22.5%)	0 (0%)	0.04
Ivična nekroza rane na nozi	3 (11%)	4 (12.9%)	0 (0%)	0.17
Limforeja rane na nozi	0 (0%)	3 (9.67%)	0 (0%)	0.07
Otok noge	9 (33.3%)	10 (32.2%)	2 (8%)	0.04
Bol na mestu preparacije vene	8 (29.6%)	9 (29%)	2 (8%)	0.09
Utrnulost na mestu preparacije vene	8 (29.6%)	12 (38.7%)	4 (16%)	0.15

Period praćenja do godinu dana

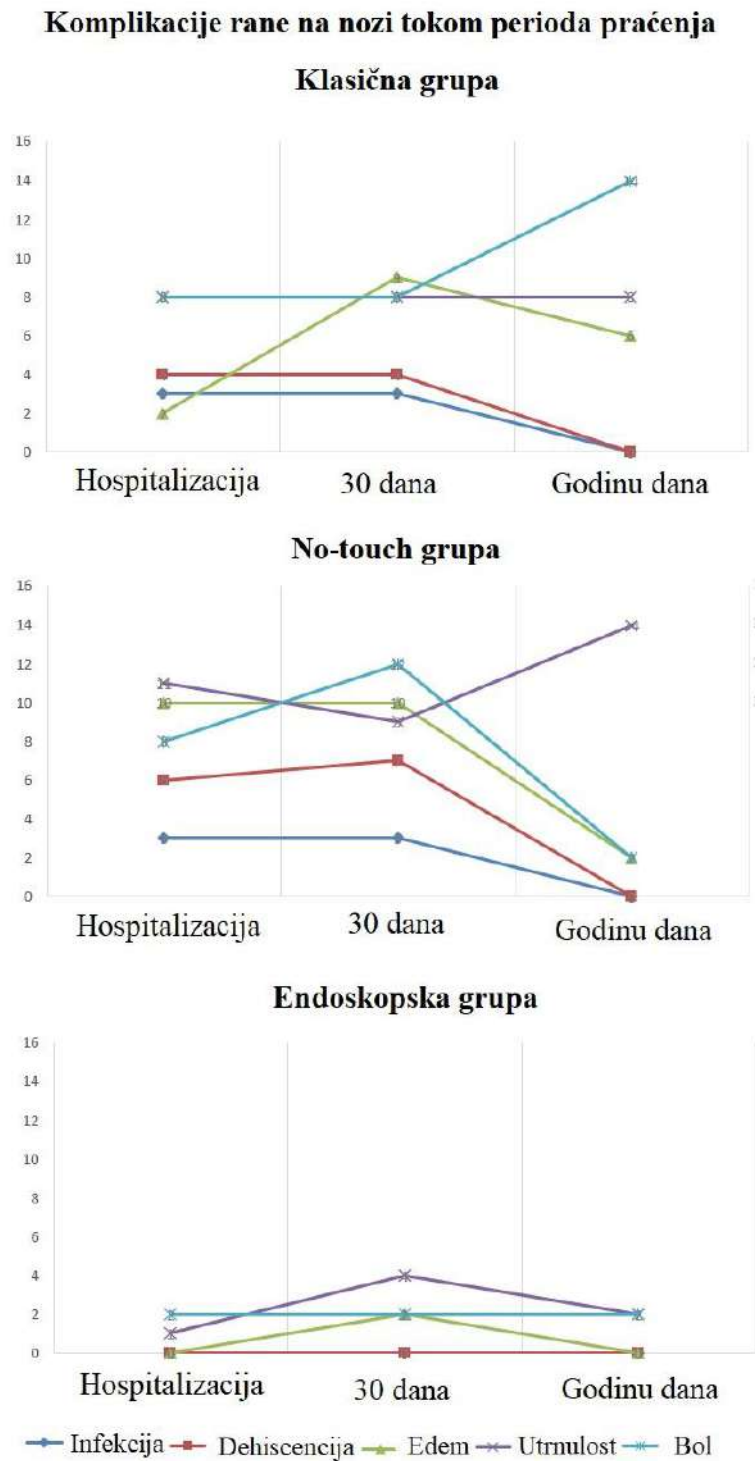
Dva pacijenta (7,4%) u grupi klasično pripremane vene je umrlo tokom perioda praćenja. Uzrok smrti kod jednog bolesnika bio je ishemijski srčani događaj, dok je drugi smrtni ishod uzrokovan infekcijom Korona virusom. Anginozne tegobe su registrovane kod jednog pacijenta iz no-touch grupe. Dva bolesnika iz klasične grupe su hospitalizovana i preminula zbog gore navedenih razloga. Površinska infekcija grudne rane registrovana je kod dva bolesnika (6,4%) iz druge grupe. Nije bilo infekcija i dehiscencija rane na nogama. Statistička razlika između grupa bila je zabeležena u pojavi otoka, parestezija i bola u nogama sa kojih su vene uzete za revaskularizaciju (*Hi-kvadrat test*, $p=0,02$, $p=0,01$ i $p=0,002$, redom). Ostale varijable praćene u periodu od godinu dana prikazane su u tabeli 17.

Tabela 17. Neželjeni događaji godinu dana nakon operativnog lečenja

Godišnji period praćenja	Klasična grupa N(27)	No-touch grupa N(31)	Endoskopska grupa N(25)	P vrednost
Mortalitet	2 (7.4%)	0 (0%)	0 (0%)	
1. Kardiovaskularni	1 (50%)	0	0	0.1
2. Ostali	1 (50%)	0	0	
Hospitalizacije	2 (7.4%)	0 (0%)	0 (0%)	0.1
Angina pectoris	0 (0%)	1 (3.2%)	0 (0%)	0.43
Infarkt miokarda	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
Šlog	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
Površinska infekcija preternalne rane	0 (0%)	2 (6.4%)	0 (0%)	0.17
Medijastinitis	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
Infekcija rane na nozi	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
Dehiscencija rane na nozi	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
Otok noge	6 (22.2%)	2 (6.4%)	0 (0%)	0.02
Bol na mestu preparacije vene	8 (29.6%)	3 (9.67%)	1 (4%)	0.01
Utrnulost na mestu preparacije vene	14 (51.8%)	9 (29.03%)	2 (8%)	0.002

Postoperativne komplikacije mesta uzimanja graftova safenske vene praćeni su dinamićki kroz periode tokom boravka u bolnici, nakon mesec dana i nakon godinu dana. Distribucija i broj neželjenih događaja predstavljen je grafikonom 5.

Grafikon 5. Komplikacije rana na mestu uzimanja venskog grafta tokom perioda praćenja



5. Diskusija

Trend povećanja upotrebe arterijskih graftova u hirurškoj revaskularizaciji je poslednjih godina jako izražen. Studije pokazuju rezultate po kojima arterijska revaskularizacija ima značajno bolji uticaj na dugoročno preživljavanje pacijenata. Na osnovu ovih rezultata postavlja se pitanje značaja i upotrebe VSV u ACB hirurgiji. Najnovija istraživanja pokazuju da je ipak velika safenska vena najviše korišćeni krvni sud za revaskularizaciju miokarda. Ove podatke prikazuje i velika studija koja je analizirala dve najveće nacionalne baze: STS baza (Udruženje torakalnih hirurga amerike) i Australijsko-Novozelandska kardiorakalna baza, one su analizirale procenat primenjenih graftova korišćenih u hirurškoj revaskularizaciji miokarda. Baza američkog udruženja je registrovala da je 89,3% pacijenata revaskularizovano primenom unutrašnje torakalne arterije i graftovima velike safenske vene, ostatak je revaskularizovan kombinacijom dodatnih arterijskih graftova. Najveći procenat američkih hirurga koristi kombinaciju jednog arterijskog i jednog ili više venskog grafta. Nasuprot tome u Australijsko-Novozelandskoj bazi pronađeno je da manji procenat pacijenata ima revaskularizaciju kombinovanjem unutrašnje torakalne arterije i velike safenske vene (51,4%) u odnosu na STS bazu. Značajno veći procenat revaskularizacije u Australiji se izvodi kombinovanjem unutrašnje torakalne arterije sa još nekim arterijskim krvnim sudom, u poređenju sa ostalim delom sveta (48). Ovakvi rezultati dosadašnjih ispitivanja studija dovode do zaključka da graft velike safenske vene predstavlja neizostavni segment hirurške revaskularizacije miokarda. Prednosti primene velike safenske vene ogledaju se u dostupnosti dovoljne dužine krvnog suda kojom se može postići kompletna revaskularizacija miokarda. Hirurška preparacija ne iziskuje dugu krivu učenja, tako da manje iskusni hirurzi i specijalizanti mogu sa velikim procentom uspešnosti pripremiti graftove za hiruršku proceduru.

Anatomske, histološke i funkcionalne karakteristike VSV predstavljaju njene glavne limitacije, koje se karakterišu patološkim promenama nakon implantacije i takozvanoj „arterijalizaciji“ graftova što dalje vodi u njihovo propadanje i okluziju. Klinički je ovo praćeno ponovnom zahtevima za revaskularizaciju, ponovnim infarktima miokarda i kardijalnim smrtnim ishodom. Studije pokazuju da je određeni broj graftova veoma rano okludiran već nakon hirurškog zahvata, 15 – 30 % venskih graftova disfunkcionalno nakon godinu dana od operacije, a nakon 10 godina je čak 50 % graftova okludirano, dok ostali 50% prohodnih graftova ima značajne aterosklerotske lezije koje mogu remetiti protok krvi (12). Tačan mehanizam i uzročnik koji ostvaruje najveći uticaj na propadanje safenskih graftova i dalje je nepoznat. Istraživanja ukazuju da više činilaca kao što su: kvalitet venskog grafta (postoji puno

varijacija u građi safenske vene kod različitih pacijenata, pretežno je kalitet lošiji kod ženske populacije), dijametar vene, manipulacija venom tokom hirurške pripreme, prezervacija vene pre implantacije, tehnike ušivanja graftova, tehničke greške tokom operativnog zahvata, karakteristike koronarnog sistema (tzv *Run-Off*), faktori rizika pacijenta (hipertenzija, hiperlipidemija, dijabetes, pušenje, pol, starost i dr.) imaju udela u ranoj i kasnoj okluziji VSV. Nije jasno dokazano koji činičlac ima najveći uticaj u progresiji patoloških procesa koji dovode do propadanja VSV. Mehaničko oštećenje i prebacivanje vene na pulzatilni arterijski sistem značajno koreliraju sa remodelingom VSV (13, 49).

Cilj našeg istraživanja je bila analiza uticaja hirurških tehnika preparacije i pripreme na mikrostrukturne karakteristike zida VSV koja je korišćena kao graft za ACB. Primarna analiza je usmerena na patohistološko oštećenje tri osnovna sloja građe krvnog suda: endotela, medije i adventicije, ali i ostale komponente zida vene čije oštećenje može uticati na ranu promenu i okluziju nakon revaskularizacije. Pored toga su ispitivane i postoperativne hirurške komplikacije na mestu uzimanja venskih graftova u grupama gde su primenjivane različite tehnike.

Značaj endotela se ogleda u tome što sprečava ranu trombozu graftova. Normalno funkcionalne endotelne ćelije predstavljaju antitrombocitnu površinu koja omogućava laminarni protok plazme i krvnih ćelija unutar vaskularnog korita (50). Oštećenje endotela bilo direktnom povredom, hidrodinamičkim stresom turbulentnim protokom ili distenzijom uzrokovanim pritiskom, predstavlja inicijalni stimulus i pokreće kaskadu patoloških procesa koji rezultiraju nepovoljnim ishodom po prohodnost krvnog suda. *Citokini* koji se oslobodaju iz oštećenog endotela stupaju u kontakt sa cirkulišućim trombocitima i posledično ih aktiviraju. Dodatno se iz oštećenih ćelija oslobodaju proinflamatorni citokini *Endotelin1*, *endotelni faktor rasta*, *interleukin 8* i drugi. Oštećene endotelne ćelije prestaju sa lučenjem nitro-oksid i prostaciklina koji imaju antitrombocitno dejstvo. Ovako oštećeni endotel postaje trombotična i antifibrinolitikna površina, što dovodi do okluzije grafta usled tromboze ili remeti normalni laminarni protok krvi inicirajući turbulentni protok koji potpešuje i stimuliše proliferaciju i migraciju (arterijalizaciju vene) koja vodi ka degeneraciji, formiranju aterosklerotskih promena i kasnoj okluziji (50, 51).

Hirurška priprema venskog grafta često je praćena višestrukim otećenjima traktionim i istezajućim silama, uz dodatno neželjeno dejstvo hipoksije zbog odvajanja od nutritivne vaskularne mreže. Istraživanja na kulturi ćelija nisu pokazala uticaj hirurške povrede na

stimulaciju intimalne hiperplazije vene. In vivo ispitivanja pokazuju da usled hirurške preparacije i manipulacije venom dolazi do intimalnog zadebljanja i remećenja odnosa intime i medije što potvrđuje hipotezu da je povreda snažan stimulus za intimalnu hiperplaziju. Vaskularni spazam koji nastaje tokom manipulacije venom zahteva manuelnu distenziju visokim vrednostima pritiska (iznad 700mmHg) dovodeći do endotelne denudacije i oštećenje mišićnog sloja zida. (52). Studije su pokazale da različite hirurške tehnike pripreme u različitom stepenu dovode do oštećenje zida vene upravo zbog razlike u samom procesu pripreme. Naravno moraju se u razmatranje uzeti i drugi činioci kao što su iskustvo hirurga, anatomske i histološke karakteristike pacijenta i dr. Analizom dostupne literature utvrđeno je da je finkcionalna i strukturalna prezervacija endotela statistički značajnije očuvana u veni pripremanoj bezdodirnom tehnikom, nego u grupi klasično pripremanih venskih graftova. Hwang i sar. su histološkim i imunohistohemijskim (bojenjem antitelima *CD31*, *CD34*, *vWF* *eNOS*) analizama uzoraka venskih graftova pripremanih klasičnom i bezdodirnom tehnikom značajno manje oštećenje endotela u grupi vena koje su pripremane minimalnom manipulacijom, odnosno *no-touch* tehnikom (53). Primena *no touch* tehnike sprečava se spazam vene, a samim tim i neophodnost za manuelnom distenzijom vene tokom pripreme. Upravo distenzija predstavlja najznačajniji mehanizam endotelnog oštećenja, i prevencija manualnog razdivavanja vene omogućava da endotel ostane intaktan i funkcionalan (54). Već pomenuta studija Stigler i sar. pokazuje uticaj visokog pritiska tokom pripreme venskih graftova na stepen oštećenja endotela i njegovu disfunkciju. Ispitivanjem uticaja različitih pritisaka na endotel VSV pokazalo je da pritisak manualnog razduvanja od *100 mmHg* dovodi do gubitka 47 do 54 % površine endotela, dok porast pritiska na *200mmHg* oštećuje oko 60% endotela a pritisak od *500 mmHg* čak 90% endotela oštećuje. Ovaj endotel ne samo da je oštećen i denudiran, već ima i insuficijentnu sekretornu funkciju antikoagulantnih produkata te dodatno povećava rizik za formiranjem tromba (36). Pored oštećenja endotela i medije, prekomerna dilatacija vene dovodi do posledične disproporcije u dijametrima između grafta i primajuće koronarne arterije, što opet potencira rizik od rane tromboze i okluzije grafta (55). Rezultati naše studije su pokazali najbolju očuvanost endotelne strukture u grupi vena koje su pripremane *no-touch* tehnikom. Postoje tvrdnje i pretpostavke da je endoskopska tehnika preparacije u većoj meri dovela do oštećenja endotela venskih graftova sa posledičnom protrombogenim efektom i ranom okluzijom graftova (56). Ovakve činjenice su dovele do toga da endoskopska tehnika nije široko prihvaćena u kardiohirurkim centrima naročito evrope. Mnogi činioci utiču na ovakve rezultate; odabir pacijenata, veština hirurga, endoskopski setovi koji su korišćeni za pripremu vena i dr. Patohistološka i

imunohistohemijska ispitivanja ukazuju da endoskopska tehnika nije inferiornija u prezervaciji venskih graftova u odnosu na klasičnu pripremu, a po nekima je čak i bolja u očuvanju integriteta vene. Nezafati i sar. su u imunohistohemijskoj studiji koja je uključivala bojenje antitelima *vWF*, *Caveolin*, *e-cadherin* i *eNOS* pokazala isti stepen oštećenja zida VSV između klasične endoskopske tehnike (15,57).

U bazalnim uslovima funkcionisanja međusobna interakcija između endotelnih ćelija i glatkomišićnih ćelija održava glatkomišićne ćelije u stanju mirovanja, zahvaljujući produkciji homeostatskih molekula ka *NO* koji pomažu regulaciji tonusa medijalnog mišićnog sloja da suprimira prebacivanje glatkomišićnih ćelija u proliferativni mod. Lokalna inflamacija i oštećenje endotela dovodi do promene glatkomišićnih ćelija u protrombotičani mod. Pojačana sekrecija citokina *interleukin-6 (IL)*, *IL-8*, *tromboksen A2*, *faktora rasta oslobođenih od trombocita*, i *fibroblastnih faktora rasta* dovodi do pojačane sintetičke i proliferativne funkcije glatkomišićnih ćelija. Pored toga su endotelni *microRNAs miR-143/145* signali bili značajno smanjeni kod bolesnika koji su imali značajniju intimalnu hiperplaziju (44). Oštećenjem endotela dolazi do reverzibilnog edema ostatka intime i medije. Distenzija zida vene dovodi do posledičnog oštećenja medije krvnog suda. Ovakva oštećenja će u kasnijem periodu nakon implantacije dovesti do takozvane “arterijalizacije” venskih graftova. Tranzitno povećanje nediferentovanih ćelija unutar medijalnog sloja nastaje kao posledica nekroze i inflamacije oštećene medije. Signalima stimulirana proliferacija i migracija miofibroblasta preko tanke i oštećene medije venskog grafta dovodeći do intimalne hiperplazije (58). Rezultati našeg istraživanja su pokazali da je statistički značajno bilo više ireverzibilnog oštećenja i edema medije u grupi pacijenata kod kojih je vena pripremana klasičnom tehnikom u odnosu na no-touch tehniku. Ovakvi rezultati u potpunosti potvrđuju rezultate ostalih istraživanja po kojima je minimalna manipulacija venom koju primenjujemo u no-touch tehnici dala najbolje rezultate.

Adventicija vene koja je sastavljena od vezivnog tkiva predstavlja potporu i kao najjači sloj venskog zida pruža otpor pulzatilnom stresu koji nastaje prebacivanjem venskog krvnog suda u arterijski sistem. Pored toga adventicija sadrži i važne nutritivne elemente kao što su vasa vasorum koji imaju značajnu ulogu u ishrani zida krvnog suda a samim tim i na negovu funkcionalnost. Oštećenje adventicije koja je prema našim rezultatim i prema rezultatima ostalih studija bila izraženija u grupi klasično i endoskopski pripremanih vena u odnosu na no-touch tehniku. Nedostatak adventicijalnog sloja dovodi do smanjenja mase tkiva vene, sklonosti ka distenziji (zbog nemogućnosti pružanja otpora pulzatilnom stresu koji vlada u

arterijskoj cirkulaciji), endotelnoj difunkciji što sve dovodi do propadanja venskih graftova (12,19). Studija Taggart i sar. pokazala je da se ubacivanjem safenske vene u eksterni stent smanjuje intimalna hiperplazija, kompenzacijom i ublažavanjem pulsatilnog stresa koji konstantno deluje na venski zid nakon revaskularizacije (59). Iako studije pokazuju prednosti primene eksternog grafta za venske graftove, postoji bojazan da veštački materijali koji se koriste za izradu eksternih stentova može stimulirati inflamatornu reakciju, i ubrzati proces ateroskleroze. Svinjski modeli su pokazali da su sintetski stentovi od *Vicryl* i *Poliglactin-a* aktivirali inflamatorne ćelije koje su povećale glatkomišićnu proliferaciju i migraciju, neointimalnu hiperplaziju i angiogenezu. Značajno veća produkcija prostaciklina I2, cikličnog adenosin monofosfata, i cikličnog guanosin monofosfata registrovana je u grupi vene koje su bile prekrivene eksternim stentom (60). Sličan mehanizam eksterne potpore venskom graftu sreće se i kod no-touch, gde adventicija zajedno sa masnim tkivom okružuje venu. Prezervacija perivaskularnog masnog tkiva i adventicije vene kod no-touch tehnike predstavlja „prirodni eksterni stent“ koji ima protektivno dejstvo na graft nakon implantacije (61). Očuvanje integriteta ovih struktura ne predstavlja samo mehaničku podršku, veliki značaj u prohodnosti venskih graftova imaju očuvana adventicijalna vasa vasorum i sekretorna funkcija okolnog masnog tkiva. Tehničke karakteristike no-touch vene preveniraju zalamanje graftova i obezbeđuju lakše pozicioniranje. Souza i saradnici u velikom broju studija koje su sprovedi navode superiorniju prohodnost tokom skoro 30 godina praćenja pacijenata revaskularizovanih ovom metodom (62).

Oštećenje vasa vasorum prilikom klasične preparacije VSV veoma je značajno s obzirom da oni predstavljaju nutritivnu mikrovaskularnu mrežu koja omogućava vaskularizaciju čitave debljine zida vene. Pored direktnog oštećenja koje nastaje tokom preparacije, elektronska mikroskopija je detektovala da dejstvo mehaničke sile dovodi do toga da mnogi mikrovaskularni nutritivnih sudova postaju spazmirani što rezultira još većim stepenom ishemije zida VSV (62,63). Ovakno stanje mikro-nutritivnih krvnih sudova prouzrokuje smanjeni protok kroz zid što potencijalno vodi u neointimalnu hiperplaziju aktivirajući kaskadu procesa unutar medije i endotela, a što će posledično uticati na prohodnost implantiranih graftova (64). Daljom analizom, studije su pokazale postojanje mikro komunikacija između lumena krvnog suda i adventicijalne vasa vasorum. Ova činjenica je jako značajna za nutriciju zida vene koji je mnogo deblji od zida arterijskog krvnog suda, te nutritivne materije ne mogu difundovati direktno iz lumena. Očuvanje perivaskularnog masnog tkiva u no-touch tehnici je doprinelo prezervaciji nutritivnih mikrovaskularnih struktura koje

se od lumena preko medije i adventicije proteže čak u okolno masno tkivo (65). Fernandez-Alfonso i sar. su ispitali denzitet, veličinu i totalnu površinu vasa vasorum u mediji i adventiciji vena pripremanih klasičnom i no-touch tehnikom. Iako nije bilo statistički značajne razlike denzitetu i veličini, značajna razlika je otkrivena totalnoj površini vasa vasorum unutar no-touch grupe. Ista studija je pokazala da je klasičan način preparacije vene sa uklanjanjem adventicije bio praćen smanjenjem totalnog broja mikronutritivnih krvnih sudova, što prouzrokuje hipoksiju i ishemiju zida vene i direktno utiče na prohodnost venskih graftova (65). Stingl i saradnici su analizirali venske graftove nakon implantacije u različitim vremenski periodima i opisali promene koje se dešavaju u svim slojevima zida VSV. Adventicija je ostala relativno nepromenjena za razliku od dramatičnih promena koje su se javile u mediji i intimi. Unutar adventicije detektovani su VV i velike bočne grane. U normalnim okolnostima VV je formirala kapilarnu mrežu samo u adventiciji i površinskim slojevima medije. Neki autori smatraju da se 3 meseca nakon implantacije graftova VV kompletno otvore. U venskim graftovima koji su analizirani nakon dve godine od implantacije detektovana je masivna hiperplazija sa izraženim VV koja se širi čitavom debljinom medije. Rana arterijalizacija prema njihovim zaključcima praćena je izraženom intimalnom hiperplazijom i aterosklerozom je primarni proces, dok je neoangiogeneza i formiranje mreže VV samo posledica koja prati promene medijalnog sloja (66). Našim istraživanjem smo potvrdili da je mikro nutritivna mreža značajno više očuvana kod venskih graftova koji su pripremani no-touch tehnikom.

Uloga perivaskularnog masnog tkiva koje je prisutno kod graftova pripremanih no-touch tehnikom pored značaja u davanju potpore tj „prirodnog stenta“, veoma je značajna i u prevenciji zalamanja i tzv. knikovanja venskih graftova. Ova prednost omogućava lakše određivanje dužine i pozicioniranje graftova tokom hirurškog rada. Takođe je lakše ušivanje sekvencijalnih (*Jump*) *bypass*-eva, što omogućava da sa manjim brojem skinutih vena postignemo kompletnu revaskularizaciju miokarda. Smanjenje broja vena direktno smanjuje traumu i rizike od postoprativnih komplikacija na mestu uzimanja graftova. Pored tehničkih prednosti, masno tkivo je prema dosadašnjim istraživanjima ima i značajnu sekretornu funkciju, oslobađanjem tzv. perivaskularnih masnih oslobađajućih faktora i vazodilatatornih proteina. Oslobađanje adiponektina i leptina perivaskularnog tkiva pretpostavlja se da imaju ulogu u boljoj prohodnosti no touch (67). Momin i sar. su pokazali postojanje leptinske sekrecije perivaskularnog tkiva mamarne arterije i safenske vene sa peteljkom. Upravo vazodilatatorno dejstvo leptina ima značajnu ulogu u prevenciji spazma graftova i rane okluzije istih (68). Ovo dejstvo leptina naročito je značajno zbog održavanja protoka krvi kroz vasa vasorum nakon

implantacije vene. Pored dejstva na venski graft lokalnom vazodilatacijom, leptin ima ulogu u dilataciji koronarnih arterija i endotelne produkcije nitrooksida što sve ima značajan protektivni efekat na distalne koronarne krvne sudove, i sprečava stvaranje distalne koronarne bolesti (69,70,71). Antitrombogeni i antivazospastični efekti sekretovanih materija očuvanog zida venskog grafta predstavljaju jedan od ključnih činilaca koji utiču kako na ranu tako i na kasnu prohodnost implantiranog grafta. Svaka vena korišćena za hiruršku revaskularizaciju miokarda je zbog drugačije hemodinamike arterijskog krvnog korita izložena promenama koje predstavljaju takozvanu „arterijalizaciju“. Ovi procesi se ne mogu u potpunosti zaustaviti, ali se poboljšanjem hirurške tehnike i smanjenjem traume mogu u značajnoj meri umanjiti i usporiti. Ovu pretpostavku potkrepljuju i rezultati studija koje pokazuju bolju prohodnost venskih graftova sa manjim stepenom oštećenja prilikom pripreme (72).

Prohodnost venskih *bypass*-eva predstavlja jedan od značajnih faktora preživljavanja, pojavu velikih kardijalnih neželjenih događaja, i zahteva za reopracijama. Mnoge studije analiziraju koleraciju između primenjen hirurške tehnike pripreme venskih graftova i kratkoročne ili dugoročne prohodnosti. Randomizovana studija koju su sprovedi Johansson i sar. uključila je 104 pacijenata kod kojih je vena pripremana no-touch i klasičnom tehnikom, sa fokusom na prohodnost graftova i rane aterosklerotske promene. Analizom 18 mesečne prohodnosti, stenoze su detektovane u 11% u no-touch i 25% u klasičnoj grupi ($p=0.006$). Intravaskularni ultrazvučni pregled registrovao je smanjeno intimalno zadebljanje ($p=0.03$), manji stepen intimalne hiperplazije ($p=0.011$) i veći lumen ($p=0.07$) u no-touch grupi. U dugoročnom praćenju (8.5 godina) nije bilo statističke razlike u značajnim stenozama između ove dve grupe ($p=0.14$) (73). Prospektivna randomizovana studija koja je uključila 156 pacijenata, observirala je kliničke i ultrastrukturne karakteristike graftova (prohodnost, endotelnu morfologiju i aktivnost nitro-oxid sintaze). Prohodnost nakon 18-to meseci je u no-touch grupi iznosila 95.4% dok je u klasičnoj grupi 88.9% ($p=0.025$). Slične rezultate prohodnosti su prikazali i Souza i sar u svojoj randomizovanoj studiji (74,75).

Iako studije i istraživanja ukazuju na bolju prezervaciju i prohodnost venskih graftova pripremanih no-touch tehnikom. Nije bilo razlike u neželjenim događajima, zahtevima za ponovnim revaskularizacijama i mortalitetu između grupa (76). Postoji problem nedostatka randomizovanih studija dovoljne jačine koje mogu potkrepiti činjenice da je no-touch vena superiornija od klasične ili endoskopski pripremljenih krvnih sudova (10). Velika *Northern New England* studija koja je uključila 8542 pacijenata kod kojih je učinjen izolovan aorto koronarni bypass između 2001. i 2004. godine, u kojoj je od ukupnog broja venskih graftova 53 %

pripremano endoskopskom tehnikom, pokazala je manji mortalitet u grupi endoskopske vene dok nije bilo povećanog zahteva za revaskularizacijom (77). *Rooby* studija nije otkrila značajne razlike u kratkoročnom i jednogodišnjem praćenju neželjenih velikih kardijalnih događaja između endoskopski i klasično pripremanih venskih graftova (78). SAFINOUS-CABG IPG grupa autora na osnovu analiziranih studija dostupnih na *Pubmed* bazi podataka tvrde da endoskopski preparisana vena smanjuje rizik za okluziju graftova (79). Velika observaciona studija koja je komparirala endoskopsku i klasičnu tehniku nije registrovala statistički značajniju stopu dugoročnog mortaliteta, i kompozitnih neželjenih događaja smrti, infarkta miokarda i zahteva za ponovnom revaskularizacijom između dve poređene grupe (80). Iako je postojala statistički značajna razlika u očuvanju integriteta zida venskih graftova pripremanih no-touch tehnikom, upoređivanjem velikih neželjenih kardijalnih i crebralnih događaja unutar tri grupe u našem istraživanju koje je uključivalo srednji 19-to mesečni period praćenja nije otkrivena statistički značajna razlika. Takođe nije bilo razlike ni u mortalitetu unutar grupa tokom perioda praćenja.

Jedan od važnih problema koji u značajnoj meri iscrpljuje zdravstveni sistem, produženjem bolničkih dana, upotrebe antibiotika i trošenjem novca na materijal za hirurški rad jesu i komplikacije na mestu uzimanja safenske vene. Problem bolesnika kojima je neophodno uraditi aortokoronarni bypass jeste u tome što veliki procenat boluje od šećerne bolesti ili periferne vaskularne bolesti. U našem ispitivanju perifernu vaskularnu bolest je imalo blizu 10 % bolesnika a šećernu bolest oko 50%. Ovako visoki procenti komorbiditeta povećavaju rizik za nastanak postoperativnih komplikacija hirurških mesta rada. Komplikacije zarastanja rane na nogama i dalje imaju veoma visoku stopu koja se kreće od 2 do čak 20%. Načešće komplikacije hirurškog mesta preparacije velike safenske vene su: infekcija rane, hematomi, edem ekstremiteta, limforeja noge, i safenska neuropatija (81). Ispitivanja i studije su obično bile usmerene na hiruršku tehniku, faktore rizika, način šivenja potkožnog defekta, izboru šavnog materijala, preoperativnoj higijeni (82). Komplikacija hirurških rana nakon operativnog zahvata dovode do emocionalne patnje (šok, anksioznost, strah, stida), fizičkog ograničenja (curenje i kvasenje rane, neaktivnosti), imaju socijalni i ekonomski aspekt (83). U cilju smanjenje komplikacija 90 tih godina je uvedena endoskopska tehnika pripreme velike safenske vene. Osnovna prednost ove tehnike je značajno smanjenje traume okolnog tkiva, očuvanje vaskularizacije i sprečavanje stvaranja flapova tokom preparacije, sobzirom da korišćenje ove tehnike ne zahteva presecanje kože i potkožnog tkiva (84). Endoskopska tehnika je i u našoj studiji pokazala najbolje rezultate po pitanju smanjenja postoperativnih

komplikacija. Iako je bilo evidentno manje infekcija u grupi bolesnika kod kojih je VSV pripremana endoskopski, ta razlika nije dostigla statističku značajnost. No-touch grupa je imala najviše dehiscencija, verovatno zbog značajnog defekta masnog tkiva i posledične tenzije na suturnu liniju. Upravo zbog toga grupa autora strogo preporučuje veoma pažljivu i preciznu rekonstrukciju, kao i dobru edukaciju pripreme vene ovom tehnikom (85). Najnovija literatura pokazuje naveći stepen postoperativnih komplikacija rana u no-touch grupi. Verma i sar. su u svojoj studiji pokazali da je najveći procenat postoperativnih komplikacija noge bilo u grupi no-touch. Ovo se objašnjava time da priprema vene no-touch tehnikom zahteva uklanjanje veće količine masnog tkiva noge zbog pravljenja peteljke grafta. Tokom tromesečnog praćenja pacijenata brzine oporavka registrovano je značajno brže oporavljanje od bolnih senzacija u grupi no-touch nego klasične tehnike. Slične rezultate smo registrovali i u našoj studiji, gde je nakon godinu dana od operacije najveći broj zaostalih komplikacija bila registrovana u grupi klasično pripremane vene. Zanimljivo je to da je u no-touch grupi najizraženiji bio ispad senzibilitet, što se objašnjava kompletnim skidanjem safenskog nerva zajedno sa venom i masnom peteljkom (86). Naše istraživanje je pokazalo da se incidencija bola noge na mestu preparacije vene smanjila u no-touch a povećala u klasičnoj grupi tokom vremena praćenja, tako da je nakon godinu dana u prvoj grupi bolna osetljivost ischezla gotovo kod svih ispitanika dok je u klasičnoj grupi bilo bolesnika sa bolovima na mestu preparacije. Istraživanja su pokazala da safenska neuropatija najčešće nastaje zbog presecanja glavnog stabla ili grane safenskog nerva, kao i kompresije koja nastaje usled otoko okolnog tkiva noge (87). Hronična bol kod pacijenata kod kojih su vene pripremljena otvorenom tehnikom je posledica direktnog ili indirektnog oštećenja safenskog nerva. Ova studija je takođe zabeležila veću učestalost otoka ekstremiteta sa kog je uzeta safenska vena sa okolnim tkivom. Objašnjenje za ove komplikacije leži u tome da se tokom no-touch tehnike pripreme oštećuje mnogo više akcesornih vena i limfnih sudova u odnosu na ostale tehnike. Serozna neuropatija donjih ekstremiteta povezana sa hirurškom pripremom safenske vene prema Moawad M i sar. nastaje kao posledica neurinoma koji se stvaraju na mestima oštećenja safenskog nerva ili kao posledica reakcije organizma na šavni materijal koji se koristi u svrhu hemostaze tokom hirurške procedure (88). Formiranje pseudofibroze i neurinoma prouzrokuje bolnu osetljivost koja traje duži vremenski period i koja se može kupirati primenom lokalnih anestetika ili hirurškom reintervencijom i otklanjanjem istih, što je dovodi do izostanka bola (89).

6. Zaključci

- Histološka analiza uzorkovanog materijala bojenog Hematoksilin-eozin je registrovala najbolju očuvanost svih slojeva zida venskih krvnih sudova koji su pripremani bezdodirnom ili takozvanom no-touch tehnikom. Nije bilo statistički značajne razlike u stepenu oštećenja između klasične i endoskopske grupe venskih graftova.
- Imunohistohemijska analiza antitelima CD31, Faktora VIII, Kaveolina i eNOS je detektovala najbolju očuvanost mikrostrukturnih elemenata zida venskih graftova pripremanih no-touch tehnikom. Imunohistohemijsko bojenje nije registrovalo statistički značajnu razliku u bojenju između klasične i endoskopske grupe.
- Rani postoperativni klinički rezultati nisu se značajno razlikovali unutar ispitivanih grupa.
- Veliki neželjeni kardiovaskularni i cerebrovaskularni događaji se nisu statistički razlikovali unutar ispitivanih grupa tokom perioda praćenja.
- Komplikacije rana na mestu uzimanja venskih graftova bile su statistički značajno češće u no-touch i klasičnoj grupi. Dehiscencije i parestezije najčešće u grupi no-touch pripremanih vena, dok je bol kao dominantni simptom bio najprisutniji u klasičnoj grupi.
- Na osnovu dobijenih rezultata, koji su pokazali bolju očuvanost zida venskih graftova unutar grupe koja je pripremana bez dodirnom tehnikom tzv. no-touch, i manjeg procenta komplikacije zarastanja rana na nogama unutar endoskopske grupe autori zaključuju da ne postoji idealna tehnika. Smatramo da je no-touch tehnika minimalno invazivna za venski krvni sud, ali dovodi do većeg defekta potkožnog tkiva, dok je endoskopska tehnika poštedna za ranu ali više oštećuje venu od bezdodirne tehnike.
- Kombinacija dve tehnike, tačnije uzimanje i spajanje najboljih karakteristika može usloviti razvoj i implementaciju endoskopske – no-touch tehnike koja bi unapredila proces pripreme venskih graftova za hiruršku revaskularizaciju miokarda.

7. Literatura

1. Ferreira-González I. The epidemiology of coronary heart disease. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2014 Feb;67(2):139-44.
2. Mendis S, Puska P, Norrving B, eds. (2011). *Global atlas on cardiovascular disease prevention and control*. World Health Organization. pp. 3–18. hdl:10665/44701. ISBN 978-92-4-156437-3.
3. Wang, Haidong; et al. (October 2016). "Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015". *Lancet*. 388 (10053): 1459–1544.
4. Alexander JH, Smith PK. Coronary-Artery Bypass Grafting. *N Engl J Med*. 2016;374(20):1954-64.
5. Souza DS, Johansson B, Bojö L, Karlsson R, Geijer H, Filbey D, et al. Harvesting the saphenous vein with surrounding tissue for CABG provides long-term graft patency comparable to the left internal thoracic artery: results of a randomized longitudinal trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;132(2):373-8.
6. Perić, Miodrag. *Hirurška revaskularizacija ishemičnog miokarda*. Beograd: Medicinski fakultete, Univerzitet u Beogradu, 2013.
7. Melly L, Torregrossa G, Lee T, Jansens JL, Puskas JD. Fifty years of coronary artery bypass grafting. *J Thorac Dis*. 2018;10(3):1960-1967. doi:10.21037/jtd.2018.02.43
8. Goldman S, Zadina K, Moritz T, Ovitt T, Sethi G, Copeland JG, Thottapurathu L, Krasnicka B, Ellis N, Anderson RJ, Henderson W; VA. Long-term patency of saphenous vein and left internal mammary artery grafts after coronary artery bypass surgery: results from a Department of Veterans Affairs Cooperative Study. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44(11):2149-56.
9. Berger A, MacCarthy PA, Siebert U, Carlier S, Wijns W, Heyndrickx G, Bartunek J, Vanermen H, De Bruyne B. Long-term patency of internal mammary artery bypass grafts: relationship with preoperative severity of the native coronary artery stenosis. *Circulation*. 2004;110(11 Suppl 1):II36-40. doi:

10. Kopjar T, Dashwood MR. Endoscopic Versus "No-Touch" Saphenous Vein Harvesting for Coronary Artery Bypass Grafting: A Trade-Off Between Wound Healing and Graft Patency. *Angiology*. 2016;67(2):121-32.
11. Canver CC. Conduit options in coronary artery bypass surgery. *Chest*. 1995;108(4):1150-5.
12. Tsui JC, Souza DS, Filbey D, Bomfim V, Dashwood MR. Preserved endothelial integrity and nitric oxide synthase in saphenous vein grafts harvested by a 'no-touch' technique. *Br J Surg*. 2001;88(9):1209-15.
13. Krishnamoorthy B, Critchley W, Venkateswaran R, Barnard J, Caress A, Fildes J. A comprehensive review on learning curve associated problems in endoscopic vein harvesting and the requirement for a standardised training programme. *J Cardiothorac Surg*. 2016; 11: 45.
14. Davies MG, Klyachkin ML, Dalen H, et al. The integrity of experimental vein graft endothelium- implications on the etiology of early graft failure. *Eur J Vasc Surg* 1993; 7:156.
15. Nezafati MH, Nezafati P, Amoueian S, Attaranzadeh A, Rahimi HR. Immunohistochemistry comparing endoscopic vein harvesting vs. open vein harvesting on saphenous vein endothelium. *J Cardiothorac Surg*. 2014 Jun 17;9:101. doi: 10.1186/1749-8090-9-101.
16. Ricci, Stefano (2017-01-01), Goldman, Mitchel P.; Weiss, Robert A. (eds.), "1 - Anatomy", *Sclerotherapy (Sixth Edition)*, Elsevier, pp. 1–26.
17. Mühlberger, Dominic; Morandini, Luca; Brenner, Erich (2009). "Venous valves and major superficial tributary veins near the saphenofemoral junction". *Journal of Vascular Surgery*. 49 (6): 1562–1569.
18. Franceschi, C. Zamboni, P. (2009). *Principles of Venous Hemodynamics*. Nova biomedical Books. pp. 12–13. ISBN 978-1-60692-485-3.
19. Milroy CM, Scott DJ, Beard JD, Horrocks M, Bradfield JW. Histological appearances of the long saphenous vein. *J Pathol*. 1989;159(4):311-6.
20. Dragović M, Gerzić Z, Vučinić M. *Ishemička bolest srca. U: Hirurgija -osnovi hirurgije. Medicinska knjiga-Medicinske komunikacije, Beograd, 1998.*
21. Cohn LH. eds. *Cardiac Surgery in the Adult*, 4e. McGraw Hill; 2012.
22. Papakonstantinou NA, Baikoussis NG, Goudevenos J, Papadopoulos G, Apostolakis E. Novel no touch technique of saphenous vein harvesting: Is great graft patency rate provided?. *Ann Card Anaesth*. 2016;19(3):481-488.

23. Perić, Miodrag. Hirurška revaskularizacija ishemičnog miokarda. Beograd: Medicinski fakultete, Univerzitet u Beogradu, 2013.
24. Parang P, Arora R. Coronary vein graft disease: Pathogenesis and prevention. *Can J Cardiol.* 2009;25:e57–62.
25. Khaleel MS, Dorheim TA, Duryee MJ, Durbin HE, Jr, Bussey WD, Garvin RP, et al. High-pressure distention of the saphenous vein during preparation results in increased markers of inflammation: A potential mechanism for graft failure. *Ann Thorac Surg.* 2012;93:552–8.
26. Gaudino M, Antoniadis C, Benedetto U, Deb S, Di Franco A, Di Giammarco G, Fremes S, Glineur D, Grau J, He GW, Marinelli D, Ohmes LB, Patrono C, Puskas J, Tranbaugh R, Girardi LN, Taggart DP; ATLANTIC (Arterial Grafting International Consortium) Alliance. Mechanisms, Consequences, and Prevention of Coronary Graft Failure. *Circulation.* 2017;136(18):1749-1764.
27. Lie JT, Lawrie GM, Morris GC Jr. Aortocoronary bypass saphenous vein graft atherosclerosis. Anatomic study of 99 vein grafts from normal and hyperlipoproteinemic patients up to 75 months postoperatively. *Am J Cardiol.* 1977;40(6):906-14.
28. Vuković P. Perić M, Radak Đ. Venski graft u koronarnoj hirurgiji- faktori njegovog oštećenja i mogućnost hirurške prevencije. *Medicinska istraživanja* 2003; 37:28-32.
29. Sayer GL, Smith PD. Immunocytochemical characterisation of the inflammatory cell infiltrate of varicose veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004;28(5):479-83.
30. Mrvaljević D. Anatomija donjeg ekstremiteta(Membrum inferius). Savremena administracija, Beograd, 1993.
31. Vučinić M. Integralni pristup vaskularnoj medicini za lekare opšte prakse. Cardiohealth system Institut “Dedinje”, Beograd, 1999.
32. Shah PJ, Gordon I, Fuller J, Seevanayagam S, Rosalion A, Tatoulis J, Raman JS, Buxton BF. Factors affecting saphenous vein graft patency: clinical and angiographic study in 1402 symptomatic patients operated on between 1977 and 1999. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;126(6):1972-7.
33. Pinho-Gomes AC, Azevedo L, Antoniadis C, Taggart DP. Comparison of graft patency following coronary artery bypass grafting in the left versus the right coronary artery systems: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2018;54(2):221-228.

34. Perić, Miodrag. Hirurška revaskularizacija ishemičnog miokarda. Beograd: Medicinski fakultete, Univerzitet u Beogradu, 2013.
35. Li FD, Eagle S, Brophy C, Hocking KM, Osgood M, Komalavilas P, Cheung-Flynn J. Pressure control during preparation of saphenous veins. *JAMA Surg.* 2014;149(7):655-62.
36. Stigler, R., Steger, C., Schachner, T., Holfeld, J., Edlinger, M., Grimm, M., & Semsroth, S. (2012). The impact of distension pressure on acute endothelial cell loss and neointimal proliferation in saphenous vein grafts. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 42(4), e74-e79.
37. Dashwood MR, Savage K, Dooley A, Shi-Wen X, Abraham DJ, Souza DS. Effect of vein graft harvesting on endothelial nitric oxide synthase and nitric oxide production. *Ann Thorac Surg.* 2005;80(3):939-44.
38. Ben Ali W, Bouhout I, Perrault LP. The effect of storage solutions, gene therapy, and antiproliferative agents on endothelial function and saphenous vein graft patency. *J Card Surg.* 2018;33(5):235-242.
39. Kown MH, Yamaguchi A, Jahncke CL, Miniati D, Murata S, Grunenfelder J, Koransky ML, Rothbard JB, Robbins RC. L-arginine polymers inhibit the development of vein graft neointimal hyperplasia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001;121(5):971-80.
40. Gasper WJ, Owens CD, Kim JM, Hills N, Belkin M, Creager MA, Conte MS. Thirty-day vein remodeling is predictive of midterm graft patency after lower extremity bypass. *J Vasc Surg.* 2013;57(1):9-18.
41. Jeremy JY, Shukla N, Angelini GD, Wan S. Endothelin-1 (ET-1) and vein graft failure and the therapeutic potential of ET-1 receptor antagonists. *Pharmacol Res.* 2011;63(6):483-9.
42. Lu DY, Chen EY, Wong DJ, Yamamoto K, Protack CD, Williams WT, Assi R, Hall MR, Sadaghianloo N, Dardik A. Vein graft adaptation and fistula maturation in the arterial environment. *J Surg Res.* 2014;188(1):162-73.
43. Sarjeant JM, Rabinovitch M. Understanding and treating vein graft atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol.* 2002;11(5):263-71.
44. Guida G, Ward AO, Bruno VD, George SJ, Caputo M, Angelini GD, Zakkar M. Saphenous vein graft disease, pathophysiology, prevention, and treatment. A review of the literature. *J Card Surg.* 2020;35(6):1314-1321.

45. Steegers MA, van de Luitgaarden A, Noyez L, Scheffer GJ, Wilder-Smith OH. The role of angina pectoris in chronic pain after coronary artery bypass graft surgery. *J Pain*. 2007;8(8):667-73.
46. Landesberg G, Beattie WS, Mosseri M, Jaffe AS, Alpert JS. Perioperative myocardial infarction. *Circulation*. 2009;119(22):2936-44.
47. Singh K, Anderson E, Harper JG. Overview and management of sternal wound infection. *Semin Plast Surg*. 2011;25(1):25-33.
48. Schwann TA, Tatoulis J, Puskas J, Bonnell M, Taggart D, Kurlansky P, et al. Worldwide Trends in Multi-arterial Coronary Artery Bypass Grafting Surgery 2004-2014: A Tale of 2 Continents. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 2017;29(3):273-280.
49. Schanzer A, Hevelone N, Owens CD, Belkin M, Bandyk DF, Clowes AW, et al. Technical factors affecting autogenous vein graft failure: observations from a large multicenter trial. *J Vasc Surg*. 2007;46:1180–90.
50. Gukop Ph, Momin A. Early saphenous vein graft disease following coronary artery bypass grafting. *Surgery (Oxford)*. 2018;36(2):83-85.
51. Zakkar M, Luong le A, Chaudhury H, Ruud O, Punjabi PP, Anderson JR, Mullholand JW, Clements AT, Krams R, Foin N, Athanasiou T, Leen EL, Mason JC, Haskard DO, Evans PC. Dexamethasone arterializes venous endothelial cells by inducing mitogen-activated protein kinase phosphatase-1: a novel antiinflammatory treatment for vein grafts? *Circulation*. 2011;123(5):524-32.
52. Osgood MJ, Hocking KM, Voskresensky IV, Li FD, Komalavilas P, Cheung-Flynn J, Brophy CM. Surgical vein graft preparation promotes cellular dysfunction, oxidative stress, and intimal hyperplasia in human saphenous vein. *J Vasc Surg*. 2014;60(1):202-11.
53. 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.
54. Dashwood MR, Tsui JC. 'No-touch' saphenous vein harvesting improves graft performance in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a journey from bedside to bench. *Vascul Pharmacol*. 2013;58(3):240-50.
55. Yamane Y, Uchida N, Okubo S, Morimoto H, Mukai S. Impact of the size mismatch between saphenous vein graft and coronary artery on graft patency. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2017;65(1):25-31.

56. Brat R, Horacek J, Sieja J. Endoscopic vs open saphenous vein harvest for coronary artery bypass grafting: a leg-related morbidity and histological comparison. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2013;157(1):70-4.
57. Hashmi SF, Krishnamoorthy B, Critchley WR, Walker P, Bishop PW, Venkateswaran RV, Fildes JE, Yonan N. Histological and immunohistochemical evaluation of human saphenous vein harvested by endoscopic and open conventional methods. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2015;20(2):178-85.
58. Shi Y, O'Brien JE Jr, Mannion JD, Morrison RC, Chung W, Fard A, Zalewski A. Remodeling of autologous saphenous vein grafts. The role of perivascular myofibroblasts. *Circulation.* 1997;95(12):2684-93.
59. Taggart DP, Webb CM, Desouza A, Yadav R, Channon KM, De Robertis F, Di Mario C. Long-term performance of an external stent for saphenous vein grafts: the VEST IV trial. *J Cardiothorac Surg.* 2018;13(1):117.
60. Jeremy JY, Gadsdon P, Shukla N, et al. On the biology of saphenous vein grafts fitted with external synthetic sheaths and stents. *Biomaterials* 2007; 28: 895–908.
61. Taggart D, Nir RR, Bolotin G. New technologies in coronary artery surgery. *Rambam Maimonides Med J.* 2013;4(3):e0018. doi: 10.5041/RMMJ.10118.
62. Dreifaldt M, Souza DS, Loesch A, Muddle JR, Karlsson MG, Filbey D, et al. The "no-touch" harvesting technique for vein grafts in coronary artery bypass surgery preserves an intact vasa vasorum. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2011;141(1):145-50.
63. Loesch A, Dashwood MR. Vasa vasorum inside out/outside in communication: a potential role in the patency of saphenous vein coronary artery bypass grafts. *J Cell Commun Signal* 2018; 12: 631–643.
64. Samano N, Souza D, Dashwood MR. Saphenous veins in coronary artery bypass grafting need external support. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2021;29(5):457-467.
65. Fernandez-Alfonso MS, Souza DS, Dreifaldt M, Dashwood MR. Commentary: perivascular fat and improved vein graft patency in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Curr Vasc Pharmacol* 2016; 14: 308–312.
66. Stingl J, Musil V, Pirk J, Straka Z, Setina M, Sach J, Kachlik D, Patzelt M. Vasa vasorum of the failed aorto-coronary venous grafts. *Surg Radiol Anat.* 2018;40(7):769-778.
67. Dashwood MR. No-Touch Saphenous Vein - Vascular Damage and the London Connection. *Braz J Cardiovasc Surg.* 2022;37(Spec 1):1-6.

68. Momin AU, Melikian N, Shah AM, Grieve DJ, Wheatcroft SB, John L, El Gamel A, Desai JB, Nelson T, Driver C, Sherwood RA, Kearney MT. Leptin is an endothelial-independent vasodilator in humans with coronary artery disease: Evidence for tissue specificity of leptin resistance. *Eur Heart J*. 2006;27(19):2294-9.
69. Dashwood MR, Dooley A, Shi-Wen X, Abraham DJ, Dreifaldt M, Souza DS. Perivascular fat-derived leptin: a potential role in improved vein graft performance in coronary artery bypass surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2011;12(2):170-3.
70. Samano N, Dashwood M, Souza D. No-touch vein grafts and the destiny of venous revascularization in coronary artery bypass grafting-a 25th anniversary perspective. *Ann Cardiothorac Surg*. 2018;7(5):681-685.
71. Zaborska KE, Wareing M, Austin C. Comparisons between perivascular adipose tissue and the endothelium in their modulation of vascular tone. *Br J Pharmacol*. 2017;174(20):3388-3397.
72. Sepehrpour AH, Jarral OA, Shipolini AR, McCormack DJ. Does a 'no-touch' technique result in better vein patency? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2011 Dec;13(6):626-30.
73. Johansson BL, Souza DS, Bodin L, Filbey D, Loesch A, Geijer H, Bojö L. Slower progression of atherosclerosis in vein grafts harvested with 'no touch' technique compared with conventional harvesting technique in coronary artery bypass grafting: an angiographic and intravascular ultrasound study. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010;38(4):414-9.
74. Rueda Fd, Souza D, Lima Rde C, Menezes A, Johansson B, Dashwood M, Thé E, Gesteira M, Escobar M, Vasconcelos F. Novel no-touch technique of harvesting the saphenous vein for coronary artery bypass grafting. *Arq Bras Cardiol*. 2008;90(6):356-62.
75. Souza DS, Johansson B, Bojö L, Karlsson R, Geijer H, Filbey D, Bodin L, Arbeus M, Dashwood MR. Harvesting the saphenous vein with surrounding tissue for CABG provides long-term graft patency comparable to the left internal thoracic artery: results of a randomized longitudinal trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;132(2):373-8.
76. Tian M, Wang X, Sun H, Feng W, Song Y, Lu F, et al. No-Touch Versus Conventional Vein Harvesting Techniques at 12 Months After Coronary Artery Bypass Grafting Surgery: Multicenter Randomized, Controlled Trial. *Circulation*. 2021;144(14):1120-1129
77. Dacey LJ, Braxton JH Jr, Kramer RS, Schmoker JD, Charlesworth DC, et al; Northern New England Cardiovascular Disease Study Group. Long-term outcomes of

- endoscopic vein harvesting after coronary artery bypass grafting. *Circulation*. 2011;123(2):147-53.
78. Shroyer AL, Grover FL, Hattler B, Collins JF, McDonald GO, Kozora E, et al; Veterans Affairs Randomized On/Off Bypass (ROOBY) Study Group. On-pump versus off-pump coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med*. 2009;361(19):1827-37.
79. Antonopoulos AS, Odutayo A, Oikonomou EK, Trivella M, Petrou M, Collins GS, et al. SAFINOUS-CABG (Saphenous Vein Graft Failure—An Outcomes Study in Coronary Artery Bypass Grafting) group. Development of a risk score for early saphenous vein graft failure: An individual patient data meta-analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020;160(1):116-127.
80. Williams JB, Peterson ED, Brennan JM, Sedrakyan A, Tavis D, Alexander JH, et al. Association between endoscopic vs open vein-graft harvesting and mortality, wound complications, and cardiovascular events in patients undergoing CABG surgery. *JAMA*. 2012;308(5):475-84.
81. Media A.S, Rajendran R, Kimose H.H, et al. Effect of preoperative ultrasound mapping of the saphenous vein on leg wound complications after coronary artery bypass surgery: a systematic review. *Cardiothorac Surg* 30, 21 (2022). <https://doi.org/10.1186/s43057-022-00080-9>
82. Risnes I, Abdelnoor M, Lundblad R, Baksaas ST, Svennevig JL. Leg wound closure after saphenous vein harvesting in patients undergoing coronary artery bypass grafting: a prospective randomized study comparing intracutaneous, transcutaneous and zipper techniques. *Scand Cardiovasc J*. 2002;36(6):378-82.
83. McCaughan D, Sheard L, Cullum N, Dumville J, Chetter I. Patients' perceptions and experiences of living with a surgical wound healing by secondary intention: A qualitative study. *Int J Nurs Stud*. 2018;77:29-38.
84. Soni MK, Williams L, Raja SG. Use of endoscopic vein harvesting (EVH) during coronary artery bypass grafting in United Kingdom: The EVH survey. *Int J Surg*. 2019;69:146-151.
85. Tian M, Wang X, Sun H, Feng W, Song Y, Lu F, et al. No-Touch Versus Conventional Vein Harvesting Techniques at 12 Months After Coronary Artery Bypass Grafting Surgery: Multicenter Randomized, Controlled Trial. *Circulation*. 2021;144(14):1120-1129

86. Verma S, Lovren F, Pan Y, Yanagawa B, Deb S, Karkhanis R, et al. Pedicled no-touch saphenous vein graft harvest limits vascular smooth muscle cell activation: the PATENT saphenous vein graft study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;45(4):717-25.
87. Mountney J, Wilkinson GA. Saphenous neuralgia after coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999;16(4):440-3.
88. Moawad MR, Masannat YA, Alhamdani A, Gibbons CP. Nerve injury in lower limb vascular surgery. *Surgeon.* 2008;6(1):32-5.
89. Kachar SM, Williams KM, Finn HA. Neuroma of the infrapatellar branch of the saphenous nerve a cause of reversible knee stiffness after total knee arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2008;23(6):927-30.

8. Biografija Autora

Doktor Igor Živković je rođen u Ljubljani, Republika Slovenija 20.09.1988 godine. Osnovnu školu Vožd Karađorđe u Nišu je završio 2003 godine sa odličnim uspehom. Gimnaziju 9. Maj u Nišu završava 2007 godine sa odličnim uspehom, nakon čega iste godine upisuje Medicinski fakultet, Univerziteta u Nišu. Diplomirao je Medicinski fakultet 2013 godine sa prosečnom ocenom 9,81. U toku studija dr Igor Živković je bio stipendista Republike Srbije i Grada Niša. Takođe je bio stipendista Fonda za mlade talente „Dositeja“ koja dodeljuje stipendije najboljim studentima završnih godina fakultet.



Nakon završenog doktorskog staža u Kliničkom centru u Nišu, 2014 godine nastavlja sa specijalističkim studijama iz kardiohirurgije na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. Od 2015 godine stalno zaposlen na Institutu za kardiovaskularne bolesti „Dedinje“ na Klinici za kardiohirurgiju. Specijalistički ispit je položio sa odličnim uspehom 2021 godine kada stiče zvanje specijaliste kardiohirurgije. Iste godine na sednici izbornog veća Katedre za hirurgiju sa anesteziologijom biva izabran za kliničkog asistenta.

Aktivno se bavi naučnoistraživačkim radom i autor je i koautor više od 30 radova u eminentnim svetskim i domaćim časopisima. U više navrata se edukovao u stranim centrima u Evropi (Intitut mutualiste Montsouris u Parizu) i Americi (Medicinski fakultete u Ročesteru).

Član je Srpskog lekarskog društva i Udruženja kardiovaskularnih hirurga Srbije. Od 2022 godine uzima aktivno učešće u radu Udruženja kardiovaskularnih hirurga Srbije da bi 2023 godine bio izabran za Generalnog sekretara udruženja.

Изјава 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

Утицај три различите хируршке технике на хистолошке и имунохистохемијске карактеристике венских графтова

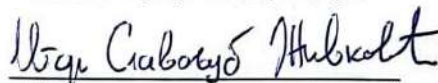
која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

- 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:


(Име, средње слово и презиме)

Изјава 2.

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

Наслов дисертације:

_ Утицај три различите хируршке технике на хистолошке и имунохистохемијске
карактеристике венских графтова _____

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:

Оливер Славковић Живковић
(Име, средње слово и презиме)

Изјава 3:

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

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

_____ Утицај три различите хируршке технике на хистолошке и имунохистохемијске карактеристике венских графтова _____

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:


(Име, средње слово и презиме)

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